Aus dem Pathologischen Institut (WE 6)
im Klinikum Charlottenburg (FB 3) der Freien Universität Berlin
Geschäftsf. Direktor: Professor Dr. med. F. Niedobitek

MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN AN BELEGZELLEN DES RATTENMAGENS UNTER CHRONISCHER ALKOHOLAPPLIKATION

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hussain Al-Abadi
aus Mahmodia/Irak
1975

Aus dem Pathologischen Institut (WE 6) im Klinikum
Charlottenburg (FB 3) der Freien Universität Berlin
Geschäftsf. Direktor: Prof. Dr. med. F. Niedobitek

MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN AN BELEGZELLEN DES RATTENMAGENS UNTER CHRONISCHER ALKOHOLAPPLIKATION

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hussain Al-Abadi
aus Mahmodia/Irak

1975

Referent: Prof.Dr.med. F. Niedobitek
Korreferent: Prof.Dr.med. C.J. Lüders

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin
Promoviert am: 28.11.1975

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG

II. MATERIAL und METHODIK

A. Material

B. Methodik

1. Untersuchungen an histologischen Präparaten

2. Untersuchungen an zytologischen Präparaten

3. Untersuchung mit dem Revolverokular mit Integrationsstrichplatte IV

4. Untersuchung mit dem Mikrovideomat

III. ERGEBNISSE

a) Ergebnisse der Untersuchung mit dem Revolverokular an histologischen Präparaten

1. Bestimmung der Zellfläche

2. Bestimmung der Kern-Plasma-Relation

3. Bestimmung der Kerngrößen

b) Ergebnisse der Untersuchung mit dem Mikrovideomat an histologischen Präparaten (Gruppe A, F und G)

1. Bestimmung der Zellfläche

2. Bestimmung der Kern-Plasma-Relation

3. Bestimmung der Kerngrößen

c) Ergebnisse der Untersuchung mit dem Revolverokular an zytologischen Präparaten

1. Bestimmung der Zellfläche

2. Bestimmung der Kern-Plasma-Relation

3. Bestimmung der Kerngrößen

d) Ergebnisse der Untersuchung mit dem Mikrovideomat an zytologischen Präparaten (Gruppe A, F und G)

1. Bestimmung der Zellfläche

2. Bestimmung der Kern-Plasma-Relation

3. Bestimmung der Kerngrößen

e) Vergleich der Messungen mit dem Revolverokular und dem Mikrovideomat an den zytologischen Präparaten

f) Vergleich der Messungen am eingebetteten Schnittmaterial mit den Ergebnissen des zytologischen Materials

IV. DISKUSSION

V. ZUSAMMENFASSUNG und SCHLUSSFOLGERUNG

VI. SCHRIFTTUM

Lebenslauf

I. EINLEITUNG

Schon CLAUDE BERNARD (1856) machte die Beobachtung, daß alkoholische Lösungen bei Hunden zu einer Steigerung der Magensekretion führen. Ein Vorhandensein zweier verschiedener Zelltypen, der Haupt- und Belegzellen, in den Hauptdrüsen - vor allem des Hundes - bewies 1870 HEIDENHAIN. Er äußerte schon damals die Ansicht, daß in den Hauptzellen Pepsin und in den Belegzellen Salzsäure produziert wird.

Die theoretischen Vorstellungen über die HCL-Produktion wurden besonders von HOLLANDER (1943), DAVENPORT (1940), TEORELL (1947) und REHM (1950) erarbeitet. DAVENPORT wies hohe Konzentrationen von Karboanhydratase in den Belegzellen der Fundusdrüsen nach und unterstrich die Bedeutung des Enzyms für die HCL-Bildung. HOLLANDER stellte eine einfache Theorie der HCL-Bildung auf: die Membranhydrolyse neutraler Chloride. TEORELL erklärte den Wechsel der Elektrolytkonzentrationen im Magensaft durch Elektrolytdiffusion durch die Mucosa nach Art einer "Dialysiermembran" für H^+ und Cl^-. Nach dem Konzept von REHM soll die Magenmucosa eine biologische Membran mit elektrophysiologischen Eigenschaften bilden, die wesentlichen Anteil an dem Ionentransport nimmt. Aber erst 1962 gelang es, den morphologischen Beweis dafür zu erbringen, daß es sich bei der HCL-Bildung um eine aktive Produktion durch die Belegzellen handele (VILLEGAS).

Die Reizung der Magenschleimhaut bei Hunden mit Brechweinstein erzeugte eine "parenchymatöse Gastritis" mit veränderten Belegzellen, die als "hyperplasirt", zahlreich, groß und gequollen beschrieben wurden (POPOFF 1897). Eine direkte Stimulation der Magenschleimhaut

durch Alkohol nimmt DAVENPORT an. DRAGSTEDT et al. bemerkten, daß die Magensekretion nach Alkoholeinfluß ähnlich der durch Histamin stimulierten war und postulierten, daß Alkohol örtlich Histamin freisetzt. IRVINE et al. konnten diese Ergebnisse allerdings nicht bestätigen. Nach Antrektomie jedoch wurde bei Alkoholgabe eine Herabsetzung der Magensaftsekretion bei Hunden festgestellt (WOODWARD et al.). Darüberhinaus stellten die Autoren fest, daß die Alkoholresorption nur im Corpus-Fundus-Bereich und nicht im Antrum-Bereich erfolgte. Ferner fanden sie nach Spülung eines isolierten Antrums mit Alkohol eine Zunahme der Magensekretion. Denselben Erfolg zeigten Spülungen mit 8%-igen, 16%-igen und 32%-igen Alkohollösungen (ELWIN). IRVINE behauptete entgegen WOODWARD, daß das Antrum keinen wesentlichen Einfluß auf die Magensekretion bei oraler oder intravenöser Alkoholgabe habe, die Magensaftsekretion aber bei Durchspülung der HEIDENHAIN-Tasche mit 8%-iger Alkohollösung in saurem Milieu stimuliert wird.

CAMBEL und SGOURIS (1952) beobachteten bei mit Histamin behandelten Ratten eine Zunahme der Mucosadicke mit einem Anstieg der Belegzellzahl und deren Größe. Diese histomorphologischen Veränderungen deuteten sie, wie COX und BARNES (1945), als einen Stimulationseffekt des Histamins. MARKS et al., die die gleiche Fragestellung untersuchten, fanden eine lineare Beziehung zwischen Histamin und der Gesamtbelegzellzahl sowie der Mucosadicke im Fundusbereich.

In einer Untersuchungsreihe an Hunden, denen über 16 Monate 40%-iger Äthanol zugeführt wurde, nahm die durchschnittliche Säureproduktion pro Tag in der HEIDENHAIN-Tasche innerhalb eines Monats um 140,4% zu und blieb während der gesamten Beobachtungsperiode erhöht (CHEY et al.). Die

maximale Säureproduktion des Hauptmagens stieg innerhalb des ersten Monats auf 34,9% an und blieb 4 Monate erhöht. Nach 6 Monaten jedoch lagen die Werte auf dem Niveau vor Alkoholgabe. Die Zunahme des Säureausstoßes bei mit Alkohol gefütterten Hunden erklärte CHEY durch eine Vergrößerung der Belegzellen, einer Erhöhung der Belegzellzahl oder deren Kombination. Tatsächlich fand er diese Veränderungen bei Hunden, die über 3 Monate Alkohol erhalten hatten.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Veränderungen der Belegzellgröße bei Ratten histologisch und zytologisch unter langfristiger Alkoholeinnahme zu untersuchen und zu quantifizieren.

Gleichzeitig sollen im üblichen Einbettungsverfahren hergestellte histologische Schnitte mit zytologischen Präparaten vergleichend vermessen werden.

Die Zytologie im Ausstrichverfahren ist eine in der Diagnostik bewährte Methode und hat auch schon in der praktischen Gastrologie zur Tumordiagnostik Anwendung gefunden (HENNING). Wir wählten dieses Verfahren besonders im Hinblick auf die zu erwartende geringe Schrumpfung der Zellen im zytologischen Präparat.

Als Meßmethoden werden das Revolverokular mit Integrationsstrichplatte IV und der Mikrovideomat (ZEISS) angewandt. Stereometrische Untersuchungen mit dem Mikrovideomat sind auf dem Gebiet der Gastroenterologie, insbesondere zur Messung der Belegzellgröße bis jetzt - soweit uns bekannt - noch nicht erfolgt.

Die vorliegenden Untersuchungen bieten somit die Möglichkeit eines methodischen Vergleichs zwischen konventioneller Messung mit dem Revolverokular und einem

elektronischen Verfahren. Vergleichbare Meßergebnisse auf dem Gebiet der gastroenterologischen Zytologie liegen bislang allerdings nicht vor, hauptsächlich wohl wegen methodischer Schwierigkeiten, die der Einsatz eines elektronischen Meßverfahrens mit sich bringt.

II. MATERIAL UND METHODIK

A Material

Für die experimentellen Untersuchungen wurden 84 männliche, weiße Wistar-Ratten des Stammes AF - Hannover von der Zuchtanstalt für Versuchstiere mit einem Gewicht von 178 - 256 g verwendet. Die Akklimatisationszeit betrug 8 Tage, die durchschnittliche Futtermenge einer Standardernährung mit Altromin^{R}-Festfutter war 409,5 g und die durchschnittliche Trinkmenge 515,5 ml pro Tier. Das Endgewicht der Tiere lag bei 185 - 330 g.

B Methodik

1) Untersuchungen an histologischen Präparaten

Insgesamt 42 Ratten mit einem Gewicht von 178 bis 256 g, aufgeteilt in 5 Gruppen à 6 Ratten, erhielten 15%-igen Äthanol ad libitum über 8 Tage, 2, 4, 8 und 12 Wochen; 2 Gruppen à 6 Ratten, die Wasser ad libitum bekamen, dienten als Kontrollgruppen. (Tab. 1)

Die Tiere wurden unter Äthernarkose getötet, der Ösophagus wurde 0,5 cm oberhalb der Cardia, das Duodenum 0,5 cm distal des Pylorus abgetrennt und die Mägen sofort entnommen. Sie wurden dann entlang der großen Kurvatur eröffnet und in 0,9%-iger Kochsalzlösung gewaschen, geglättet und auf einer Korkplatte befestigt. Mehrere Längsstreifen wurden von der Vorderwand, Hinterwand und der kleinen Kurvatur entnommen. Anschließend wurde das Material 2 bis 2 1/2 Stunden in Carnoy'scher Flüssigkeit fixiert, in Paraffin eingebettet und dann in 4 µ dicken Schnitten untersucht.

Die Färbung der Belegzellen erfolgte nach entsprechenden Vorversuchen mit Kongorot reinst (Firma Serva, 30 ml 1% Kongorot und 70 ml Aqua dest.) über 90 Minuten. Die Kernfärbung erfolgte mit Hämalaun. Die Hauptzellen

Tabelle 1

Histologische Untersuchungen						
Gruppe	Anzahl der Tiere	15%-iger Äthanol	Anfangs-gew. (g)	End-gew. (g)	Trinkmenge/Zeit ml	Futter-Zeit g
A	6	ohne	242-254	300-330	-	-
B	6	8 Tage	217-230	251-291	1180	1130
C	6	14 Tage	210-219	272-309	1625	1395
D	6	ohne	198-205	265-330	3080 H_2O	2730
E	6	4 Wo	178-200	255-300	2685	2600
F	6	8 Wo	205-218	300-320	4780	3105
G	6	12 Wo	193-230	295-300	5030	4630

färbten sich dabei bläulich und die Belegzellen braunrot bis rot.
Bei den Vorversuchen, die zur Erreichung eines für die Messungen notwendigen Farbkontrastes erforderlich waren, wurden folgende Färbungs- und Fixierungsmethoden erprobt.
Färbung: Eosin, Erythrosin, PAS, Aurantia, Feulgen, Kernechtrot, Lichtgrün, Chromalaun, Karmin und Gallocyanin.
Fixierung: Carnoy, Formol, Chromformol, Sublimatgemisch, Pikrinsäure, Champy, Fleming-Heitz, Kaliumdichromatformol und Bouin-Allen. (ROMEIS)

2) Untersuchungen an zytologischen Präparaten:

Insgesamt 42 Ratten mit einem Gewicht von 190 bis 256 g, aufgeteilt in 5 Gruppen à 6 Ratten, erhielten 15%-igen Äthanol ad libitum über 8 Tage, 2, 4, 8 und 12 Wochen; 2 Gruppen à 6 Ratten ohne Alkohol dienten als Kontrollgruppen. (Tab. 2)

Die Tiere wurden, wie erwähnt, getötet und entsprechend weiter behandelt. Die auf den Korkplatten befestigten Mägen wurden mit α-Chymotrypsin nach RUBIN und BENDITT 1955 (6 mg α-Chymotrypsin in 500 ml 0,1 Mol. Azetatpuffer pH 5,6 gelöst) gleichmäßig bespritzt. Nach 2 Minuten wurde mit Objektträger, Öse, Watte oder Rasiermesser zellhaltiges Material von der Schleimhaut abgestreift. Die besten Resultate erhielten wir mit Objektträger und Rasiermesser. Dieses Verfahren wurde bei den nachfolgenden Messungen angewandt. Die noch feuchten Objektträgerausstriche wurden in Äther und absolutem Äthylalkohol zu gleichen Teilen für 15 Minuten fixiert und nach Papanicolaou gefärbt. Die Kernfärbung erfolgte 6 bis 7 Minuten mit Harris-Hämatoxylin.

Tabelle 2

Zytologische Untersuchungen						
Gruppe	Anzahl der Tiere	15%-iger Äthanol	Anfangs-gew. (g)	End-gew. (g)	Trinkmen-ge/Zeit ml	Futter/ Zeit g
A	6	ohne	240-256	270-290	1975 H_2O	1300
B	6	8 Tage	235-250	250-270	1010	1000
C	6	14 Tage	232-250	185-270	1410	1480
D	6	ohne	238-252	305-310	6900 H_2O	4550
E	6	4 Wo	213-230	255-280	3400	2610
F	6	8 Wo	200-220	270-298	4420	3450
G	6	12 Wo	190-210	295-315	5800	4400

Die Papanicolaou-Färbung mußte zur Erreichung des notwendigen Farbkontrastes wie folgt modifiziert werden:

Färbung des Zytoplasmas mit Orange-G-Lösung und Schuß konzentrierter Essigsäure 15 Minuten lang. Nach dem zweimaligen Spülen in 96%-igem Alkohol 1 Minute färben mit Polychromlösung EA 31 und Schuß konzentrierter Essigsäure.

Andere Färbungen, die in Vorversuchen angewandt wurden, haben sich nicht bewährt (Panoptische Färbung nach PAPPENHEIM, Safranin-MAY-GRÜNWALD-GIEMSA-Färbung nach REIS, Acridinorange-Färbung nach BERTALANFFY, Kongorot-Hämalaun und SHORR).

3) Untersuchungen mit dem Revolverokular mit Integrationsstrichplatte IV

Unter Revolverokularen versteht man spezielle Okulare, in deren Brennebene Strich- und Punktmuster eingeführt werden (GAHM). Sie dienen der quantitativen Analyse charakteristischer Strukturen.

Um eine genügende Trefferzahl zu erhalten, wurde die Integrationsstrichplatte IV von der Firma ZEISS mit 900 Strichpunkten benutzt. Mit einem Mikrometer wurde die Gitterkonstante a eingeeicht, dabei sind 30 Strichpunkte = 73,3 µm, so daß $a^2 = 5{,}956\ \mu m^2$ sind. Die Messung und Eichung erfolgte mit einer Vergrößerung von 100 bei Optovar 2. Kern und Plasma wurden getrennt gemessen.

Die Meßfläche A ergab sich wie folgt:

$$A = p\ a^2\ (\mu m^2),$$

wobei p die Anzahl der Strichpunkte im Meßobjekt ist.

Ein unvermeidlicher und sehr schwer zu bestimmender Fehler ging infolge der histologischen Methodik (Fixierung und Einbettung) in diese Bestimmung ein. Es kann jedoch vorausgesetzt werden, daß bei gleicher Bearbeitung des Gewebes dieser Fehler in allen Fällen gleich ist, so daß ein Vergleich der Gruppen möglich ist.

4) Untersuchungen mit dem Mikrovideomat

Unter dem Begriff der "Stereometrie" faßt man das gesamte Gebiet der Längen-, Volumen-, Oberflächen- und Verteilungsmessungen zusammen. Zur quantitativen Bestimmung verwandte man bisher als optische Hilfsmittel Objekt- und Okularmikrometer und Integrationsplatten.

Der Mikrovideomat (Abb. 1) besteht aus einem Mikroskop mit aufgesetzter Fernsehkamera. Das mikroskopische Bild erscheint auf dem Bildschirm eines Schwarz-Weiß-Empfängers als Zwischenbild des Präparates. Das Fernsehbild wird - wie bekannt - durch einen Elektronenstrahl erzeugt, der zeilenförmig über den Leuchtschirm läuft. Die Hell-Dunkel-Kontraste im Bild entstehen durch Schwächung der Intensität des Elektronenstrahls. (DEGENHARD)

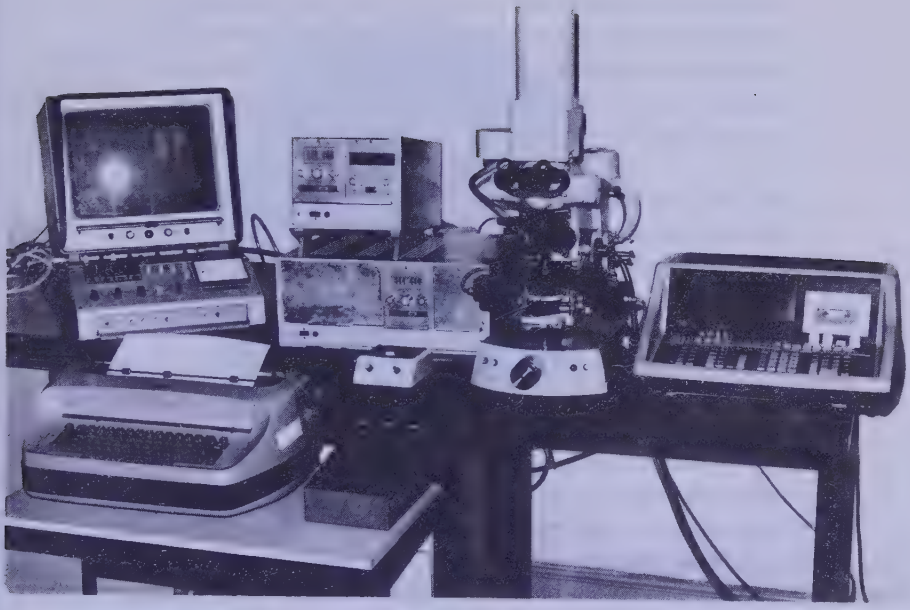


Abb. 1: Mikrovideomat

Da die Messungen auf Grund eines Helligkeitskontrastes erfolgen, ist die Genauigkeit der Meßmethode im wesentlichen vom Kontrast der Anfärbemethoden der Präparate abhängig.

In Vorversuchen stellte sich heraus, daß für die vorliegende Fragestellung - gleichzeitige Messung von Zytoplasma und Kern - als beste Möglichkeit die Anfärbung mit Hämalaun - Kongorot anzusehen ist.

Vermessen wurden nur Zellen, die gut abgrenzbar waren und keine Überlagerungsphänomene zeigten. Weiterhin wurde Wert auf gleiche Farbintensität gelegt. Pro Tier wurden 20 Zellen ausgewertet, das heißt pro Gruppe 120 Zellen.

Bei der Messung mit dem Mikrovideomat werden nur die Objektbereiche erfaßt, die infolge einer Diskriminierung auf dem Monitorschirm "dunkelgetastet" werden. Darunter versteht man, daß durch Steuerung der Kontraste dunklere Komponenten gemessen werden, während hellere unterdrückt werden. Dieser Vorgang ist auch umkehrbar. (Abb. 2a u. b)

Die Verwendung des Automatikzusatzes zum Mikrovideomat ermöglicht eine weitere Vereinfachung der Messung. Der gesamte Meßablauf wird von einem Prozeßrechner entsprechend den eingegebenen Meßparametern automatisch gesteuert. Die gewonnenen Meßdaten werden vom Rechner gesammelt, verarbeitet und auf einer Schreibmaschine ausgedruckt. Ein Vorteil dieser Zusatzeinrichtung ist darüber hinaus durch die freie Programmierbarkeit des Rechners gegeben.

Um die morphometrischen Veränderungen des Zytoplasmas und des Kernes der Belegzellen unter Alkoholeinfluß mit dem Mikrovideomaten zu bestimmen, wurden Einzelzellmessungen durchgeführt. Dazu bot sich das Programm 7734/700 (ZEISS) an. Die Bedingungen hierfür waren folgende:

1. Die Zellen mußten isoliert liegen.
2. Die Absorption mußte im Kern an jeder Stelle größer sein als der größte Absorptionswert im Plasma.

Abb. 2a: Belegzelle auf dem Monitorschirm, Transmissionsstufe I, Graubereichdiskriminator D 11 (zytol. Ausstrich, Papanicolaou, Obj. 100 x, Optovar 2)

Abb. 2b: Belegzelle auf dem Monitorschirm, Transmissionsstufe II (siehe oben)

Die Messungen erfolgten mit einer Vergrößerung von 100 und Optovar 2. Das gesamte Feld des Monitors wurde mit dem Mikrometer geeicht. Die einzelnen Belegzellen wurden mit Hilfe eines Feldes in der Vertikalen und Horizontalen eingeblendet, dann deren Länge (l) und Breite (b) in um gemessen und dem Rechner eingegeben. Zur vereinfachten Darstellung des Meßvorganges wählten wir ein Beispiel:

Beispiel:

Ph 1-Z: 190674

l = 30.000 my b = 20.000 my A = 97.40% Korr = 20 Skt
O = 840 OP' = 810 PK' = 350
m = 5

Skt	a qmy	T %	E	a.E	Pn	Kn
791.0	21.23	94.02	.026	.568	.568	
753.0	13.34	89.39	.048	.650	.650	
715.0	10.31	84.75	.071	.740	.740	
677.0	11.52	80.12	.096	1.109	1.109	
639.0	12.13	75.48	.122	1.481	1.481	
593.0	14.56	69.87	.155	2.266		2.266
539.0	14.56	63.29	.198	2.892		2.892
485.0	16.38	56.70	.246	4.035		4.035
431.0	22.44	50.12	.299	6.733		6.733
377.0	66.12	43.53	.361	23.881		23.881
323.0	215.36	36.95	.432	93.119		93.119
269.0	132.24	30.36	.517	68.453		68.453

AZ	AP	AK'	AK/AP	MZ	MP	MK	MK/MP
550.24	68.55	481.69	7.0264	205.93	4.55	201.38	44.2564

A = Meßfeldfläche in % bezogen auf das Monitorbezugsfeld

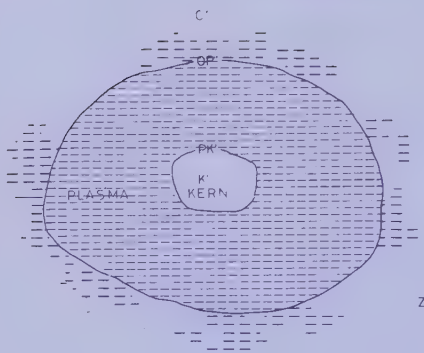
Folgende Werte müssen eingestellt, abgelesen und dem Rechner zur weiteren Verarbeitung gegeben werden:

Dabei ist eine laufende Überwachung des Monitorbildes nötig, um bei gröberen Abweichungen eine Nachdiskriminierung vorzunehmen: (Abb. 3)

Korr. = Korrektionswert in Skalenteilen (Skt)
O' = Helligkeit in Skt (Untergrund)
OP' = Grenze Untergrund zu Plasma in Skt
PK' = Grenze Plasma zu Kern in Skt
K' = größte Absorption im Kern in Skt

ABB 3

ERLAUTERUNG DER VERWENDETEN RECHEN= GROSSEN



Vorgabe - nach freier Entscheidung - von m:

m = Anzahl der gewünschten äquidistanten Transmissionsstufen im Plasma. Die gleiche Stufenzahl wird auch im Kern durchlaufen. Das Programm ist maximal mit 10 Helligkeitsstufen versehen. Nach vorausgegangenen Voruntersuchungen, ob eine größere Abweichung bei einer niedrigeren Wahl der Helligkeitsstufen erfolgt, konnte bei der vorliegenden Arbeit eine Stufenzahl von 3 gewählt werden.

Errechnete Werte der gewünschten Transmissionsstufen:

Skt = Extinktionswert

a = Differenzfläche in μm^2 zwischen zwei aufeinanderfolgenden Meßpositionen.

T = mittlere Transmission dem jeweiligen Flächenbereich a zugeordnet.

E = Extinktion dem jeweiligen Flächenbereich a zugeordnet.

a.E = Produkt Flächenbereich a mal zugeordnete Extinktion E.

P n = Produkte a.E für das Plasma.

K n = Produkte a.E für den Kern.

Ergebnisse der eingegebenen Daten einer bestimmten Belegzelle (siehe Beispiel):

AZ = Fläche der Gesamtzelle μm^2. $AZ = \sum_{1}^{m} a_1$

AP = Fläche des Zellplasmas μm^2.

AK = Fläche des Zellkerns μm^2.

AK/AP = Verhältnis Fläche Kern zu Plasma.

MZ = gesamte Masse der Zelle $(\sum_{1}^{m} P_n + \sum_{1}^{m} kn)$

MP = gesamte Masse des Plasmas ($\sum_{1}^{m}$ Pn)

MK = gesamte Masse des Kerns ($\sum_{1}^{m}$ kn)

MK/MP = Verhältnis Masse Kern zu Plasma

Die Wahl des Programmes 7734/700 - Messen einer Einzelzelle - erfolgte, weil bei der Messung aller Belegzellen pro Gesichtsfeld trotz feinster Diskriminierung eine erhebliche Anzahl angefärbter ortsständiger Bindegewebszellen (Lymphozyten, Histiocyten, Fibroblasten u. a.) ferner Fasern des Interstitiums, Kapillarwände sowie andere Drüsenzellen des Magens, oft sogar mit wesentlich stärkerer Farbintensität als selbst die Kerne der Belegzellen auf dem Monitorbild mitgemessen worden wären.

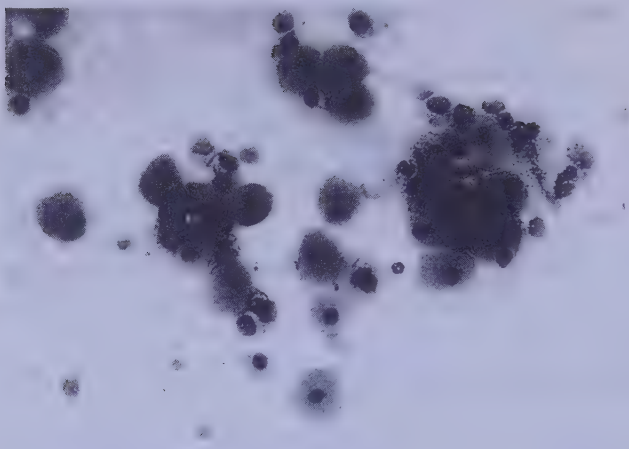


Abb. 4a: Belegzellen im zytologischen Ausstrich nach 4-wöchiger Applikation von 15%-igem Äthanol, Gruppe F (Papanicolaou, Obj. 25 x)

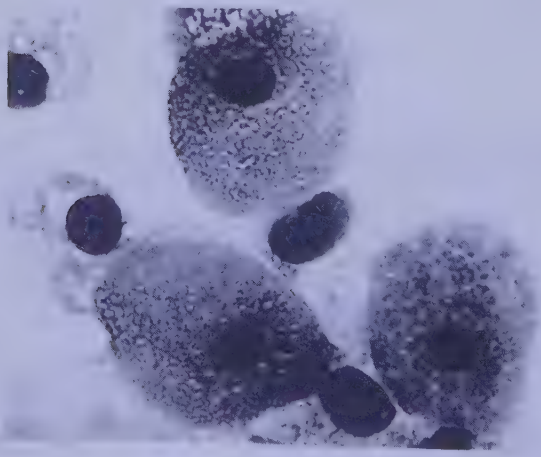


Abb. 4b: Belegzellen im zytologischen Ausstrich, Gruppe F (Papanicolaou, Obj. 100 x)

Abb. 5a

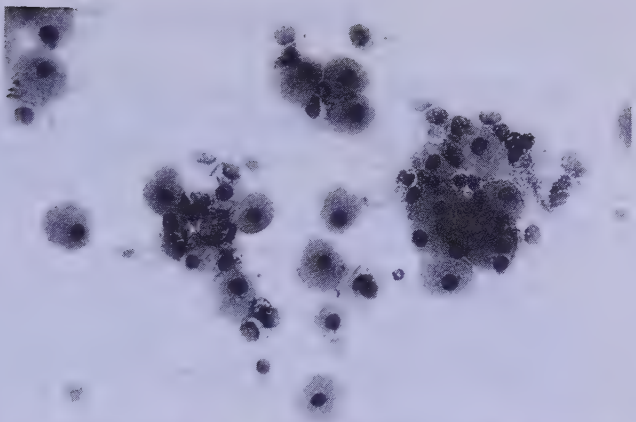


Abb. 5b

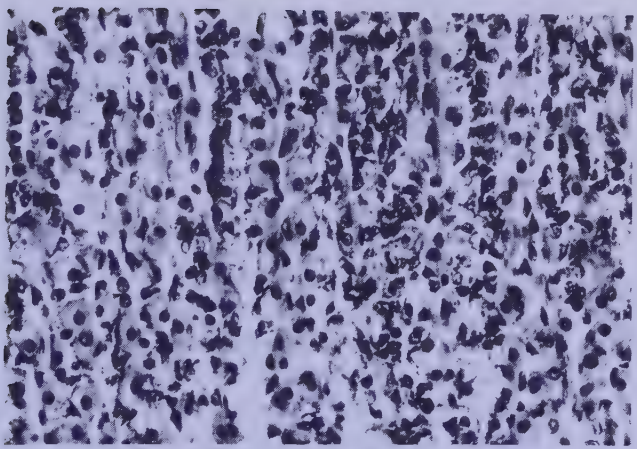


Abb. 5c

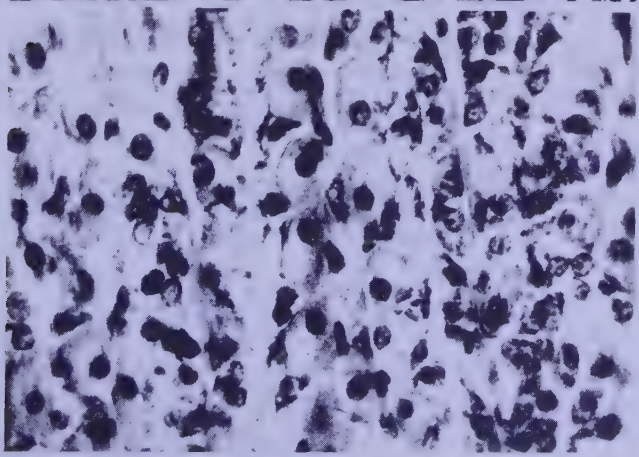


Abb. 5a: Zytologisches Ausstrichpräparat mit gut erkennbaren Belegzellen, Gruppe F (Papanicolaou, Obj. 40 x)

Abb. 5b: Eingebettetes histologisches Schnittpräparat mit deutlich sichtbarer Gewebsschrumpfung, Gruppe F (Kongorot, Obj. 40 x)

Abb. 5c: Belegzellen im histologischen Schnittpräparat mit gut erkennbaren Zell- und Kerngrenzen, Gruppe F (Kongorot, Obj. 100 x)

III. ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN

Die erhaltenen Meßdaten wurden innerhalb jeder der 7 Stichproben der Größe nach geordnet (rangiert) und die Medianwerte bestimmt.
Zum Ausschluß der Nullhypothese - alle Stichproben entstammen der gleichen Grundgesamtheit - wurde der k-sample Slippage Test (CONOVER) verwendet*. Dieser Test ist wie der Kruskal-Wallic-Test ein verteilungsfreier Mehrstichprobentest. Er gibt jedoch im Gegensatz zu diesem, bei Ablehnung der Nullhypothese, noch die Möglichkeit, multiple Vergleiche durchzuführen.

Darüberhinaus wurde bei einigen Fragestellungen die Regressionsanalyse durchgeführt. Im folgenden werden Unterschiede dann als signifikant bezeichnet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit α kleiner als 0,05 ausfällt.

Tabelle 4: Diese Tabelle - entsprechendes gilt für die Tabellen der folgenden Seiten - zeigt die Berechnung der Hilfsgrößen für die Anwendung des Slippage-Testes. Dabei stellen die Angaben der ersten Spalte M (i, j) ein Maß für die Verschiedenheit der beiden Gruppen i und j dar. Zu jedem dieser Maße wird über die Zwischenspalten aus den Tabellen ein Sollwert (m) ermittelt.

* Für die statistische Beratung danken wir Herrn Prof. Dr. med. Fuchs, Freie Universität Berlin, Institut für Statistik und Dokumentation.

Aus dem Vergleich von M und m läßt sich ablesen, ob eine Differenz signifikant ist.

a) Untersuchung mit dem Revolverokular an histologischen Präparaten

1) Bei der histomorphologischen Untersuchungsreihe der Belegzellen mit dem Revolverokular (RO) wurde bei den Ratten der Gruppe F, die über 8 Wochen Alkohol erhielten, eine Vergrößerung der Zellflächen (Gesamtzelle = Zytoplasma und Kern) um 71,6% im Vergleich zu den Tieren der Kontrollgruppe A ohne Alkohol festgestellt. Bemerkenswert ist, daß schon nach 8 Tagen - Gruppe B - eine Veränderung im Sinne einer Größenzunahme von 44,1% aufgetreten war. Die Versuchstiere, die über 12 Wochen mit Alkohol gefüttert wurden (Gruppe G), zeigten eine Größenzunahme um 33% gegenüber Gruppe A. Eine zweite Kontrollgruppe über 4 Wochen ohne Alkohol (GruppeD) wies eine geringe Zunahme der Zellfläche von 2,3% auf. Diesen Wert deuteten wir als Wachstumsfaktor.

(Tab. 3, Abb. 6 u. 7)

Tabelle 3

Medianwerte der Gesamtzelle
Histologie/RO

Tiere	Gruppen A μm^2	B μm^2	C μm^2	D μm^2	E μm^2	F μm^2	G μm^2
I	130,96	184,54	187,51	136,91	199,42	223,23	160,73
II	127,98	187,51	190,49	127,98	208,35	229,19	148,82
III	127,98	187,51	202,40	148,82	193,47	232,16	178,59
IV	127,98	172,63	184,54	133,96	208,35	214,30	190,49
V	125,01	181,56	190,49	125,01	196,44	202,40	154,77
VI	130,96	181,56	199,42	127,98	196,44	211,33	178,59
Med.w.	127,98	183,5	190,4	130,9	197,5	218,5	169,6
Proz.w.	100	144,1	149,6	102,34	155,1	171,6	133,0

ABB.: 6

MEDIANWERTE DER
GESAMTZELLE

HISTOLOGIE/RO

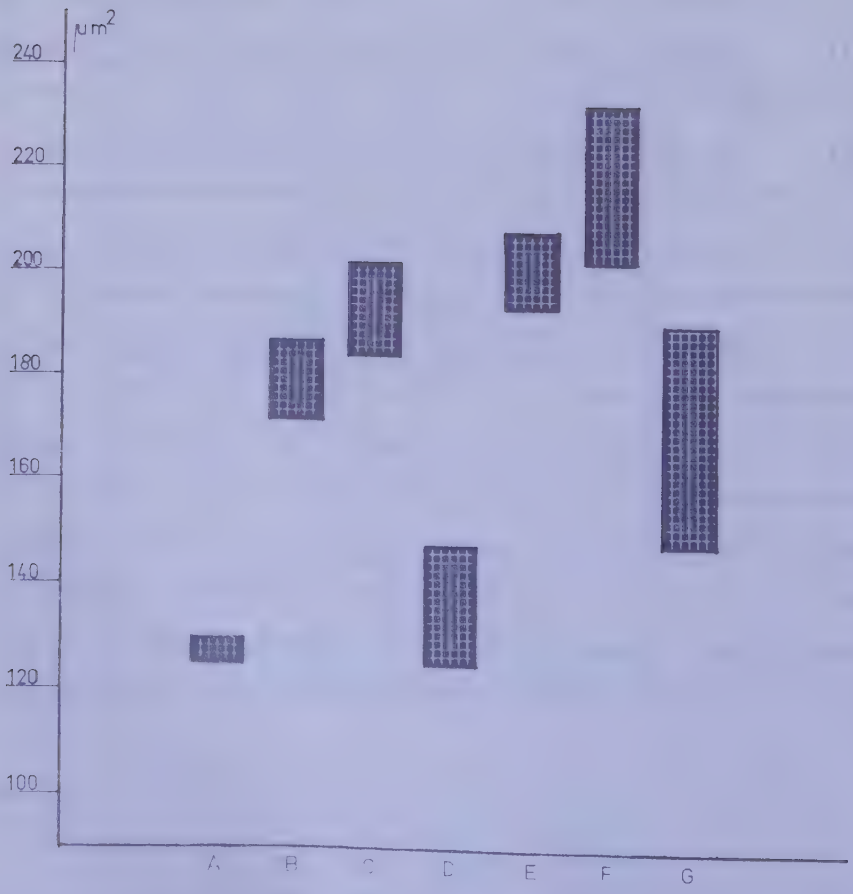
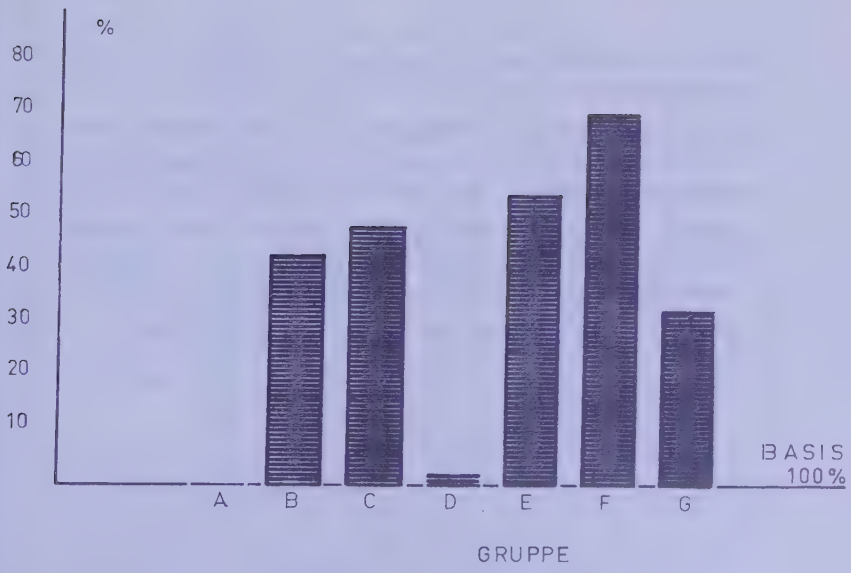


ABB. 7

MEDIANWERTE DER
GESAMTZELLE IN
PROZENTUALEM VERGLEICH

HISTOLOGIE/RO



Wir erhielten einen signifikanten Wert beim Vergleich der Gruppe F mit Gruppe A. Signifikante Werte wurden außerdem beim Vergleich der Gruppen B, C und E mit Gruppe A gefunden. Wie erwartet, ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen A und D. (Tab. 4)

Tabelle 4

Signifikanz, Revolverokular, Histologie (Gesamtzelle)
K (Gruppen) = 7 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,7) = 6	6	6	7
M (1,6) = 6	6	5	5
M (1,5) = 6	6	4	5
M (1,4) = 6	6	3	4
M (1,3) = 5	6	2	3
M (1,2) = 5	6	1	3
M (6,7) = 3	1	1	5
M (5,7) = 6	2	2	6
M (4,7) = 6	3	3	6
M (3,7) = 6	4	4	6
M (2,7) = 6	5	5	6

2) Nach Berechnung der Kern-Plasma-Relation für jede Gruppe (Tab. 5, Abb. 8 u. 9) ergab sich bei den Ratten der Gruppe F, die über 8 Wochen Alkohol erhielten, eine Verringerung der Kern-Plasma-Relation um 39,5% gegenüber der Kontrollgruppe A. Bei den beiden Kontrollgruppen A und D zeigten sich keine Veränderungen. Bei den Versuchstieren der Gruppe G war die Relation um 34,3% verkleinert, das bedeutet einen Anstieg gegenüber der Gruppe F.

Tabelle 5

Medianwerte der Kern-Plasma-Relation Histologie/RO							
	Gruppen						
Tiere	A	B	C	D	E	F	G
I	0,2787	0,1903	0,2044	0,2391	0,1764	0,1712	0,1575
II	0,2499	0,1818	0,1779	0,25	0,1641	0,1437	0,1730
III	0,2613	0,1764	0,1760	0,2299	0,1641	0,1481	0,1666
IV	0,2326	0,1878	0,1724	0,25	0,1666	0,1527	0,1581
V	0,2445	0,1721	0,1769	0,2499	0,1716	0,1516	0,1818
VI	0,2381	0,1779	0,1666	0,2388	0,1903	0,1470	0,1584
Med.w.	0,2472	0,1798	0,1764	0,2445	0,1691	0,1498	0,1625
Proz.w.	100	72,7	71,3	98,9	68,4	60,5	65,7

ABB.: 8

MEDIANWERTE DER
KERN-PLASMA-RELATION

HISTOLOGIE/RO

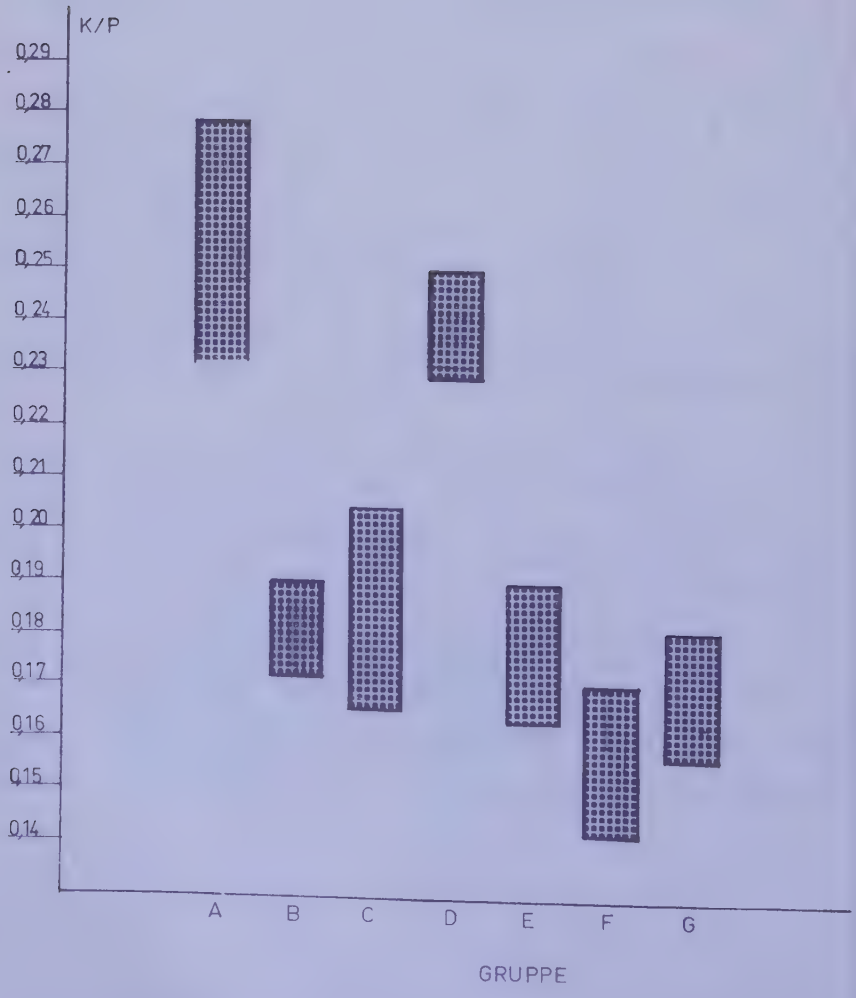
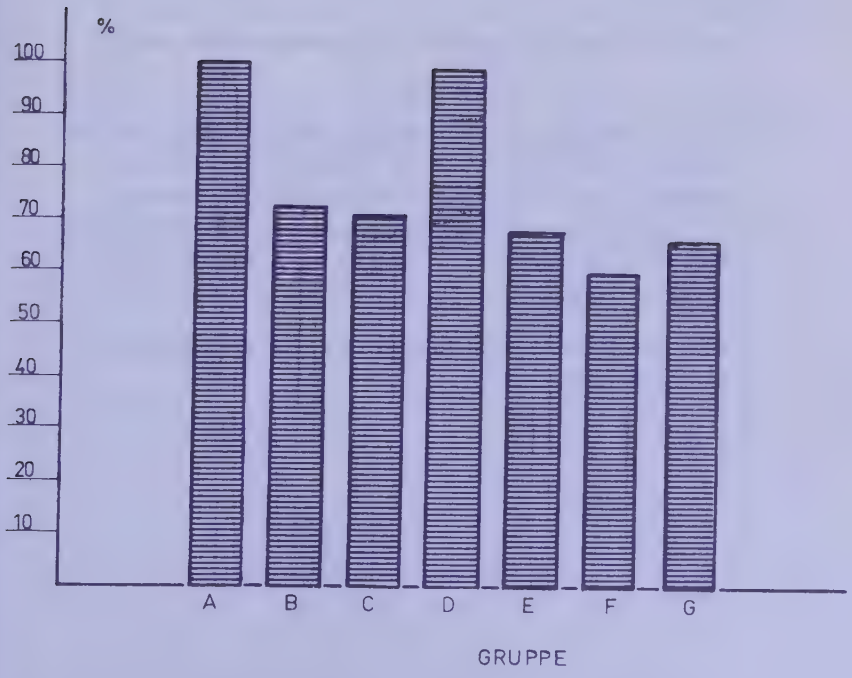


ABB.: 9

MEDIANWERTE DER
KERN-PLASMA-RELATION
IN PROZENTUALEM
VERGLEICH

HISTOLOGIE/RO



Die statistische Auswertung ergab signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen A und F sowie signifikante Differenzen bei den Gruppen B, C und E zur Gruppe A. (Tab. 6)

Tabelle 6

Signifikanz
Revolverokular, Histologie (Kern-Plasma-Relation)
K (Gruppen) = 7 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,7) = 6	6	6	7
M (1,6) = 6	6	5	5
M (1,5) = 6	6	4	5
M (1,4) = 6	6	3	4
M (1,3) = 6	6	2	3
M (1,2) = 2	6	1	3
M (6,7) = 2	1	1	5
M (5,7) = 3	2	2	6
M (4,7) = 6	3	3	6
M (3,7) = 5	4	4	6
M (2,7) = 6	5	5	6

3) Beim Vergleich der Kerngrößen der Belegzellen der Gruppe A mit der Gruppe F zeigte sich eine Vergrößerung der Kernfläche um 10,01%. Wir sahen außerdem eine Kernverkleinerung von 5,01% bei der Gruppe G gegenüber der Gruppe A. (Tab. 7, Abb. 10 u. 11)

Die übrigen Gruppen wurden bei der Kernmessung nicht berücksichtigt.

Tabelle 7

Medianwerte der Kerne Histologie/RO			
	G r u p p e n		
Tiere	A μm^2	F μm^2	G μm^2
I	35,71	38,69	25,29
II	29,76	32,74	25,29
III	32,74	35,71	28,27
IV	29,76	32,74	29,76
V	29,76	32,74	26,78
VI	29,76	32,74	29,76
Med.w.	29,76	32,74	28,27
Proz.w.	= 100%	= 110,01%	= 94,99%

Zwischen den Gruppen F und G zeigte sich statistisch ein signifikanter Unterschied. Keine Signifikanz ergab sich zwischen den Gruppen A und F sowie A und G. (Tab. 8)

Tabelle 8

Signifikanz
Revolverokular, Histologie (Kern)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 6	2	2	6
M (1,2) = 1	2	1	4
M (2,3) = 2	1	1	5

b) Untersuchung mit dem Mikrovideomat an histologischen Präparaten

Mit dem Mikrovideomat wurden nur drei Gruppen vermessen.

1) Die Meßwerte der histoquantitativen Untersuchungen mit dem Mikrovideomat (MV) ergaben bei der Versuchsgruppe F eine um 78,07% vergrößerte Zellfläche der Belegzellen gegenüber der Gruppe A. In der Gruppe G, deren Tiere über 12 Wochen Alkohol erhielten, wurde eine starke Verminderung der Zellfläche gemessen. Die Werte lagen unter denen der Gruppe A. (Tab. 9, Abb. 12 u. 13)

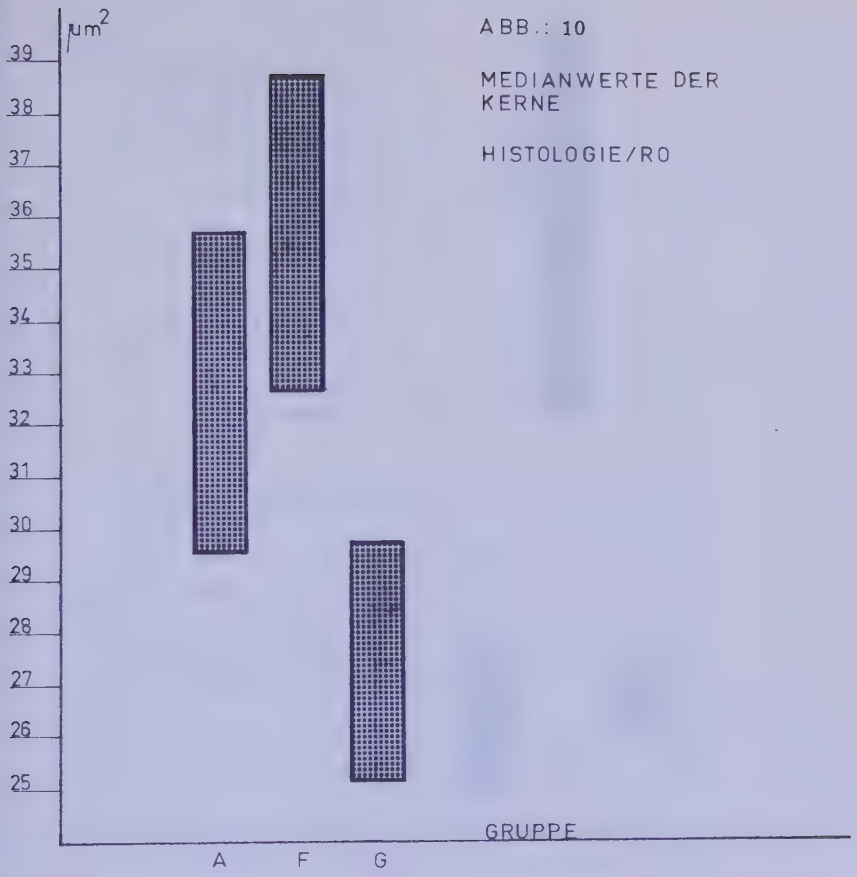


ABB.: 10

MEDIANWERTE DER KERNE

HISTOLOGIE/RO

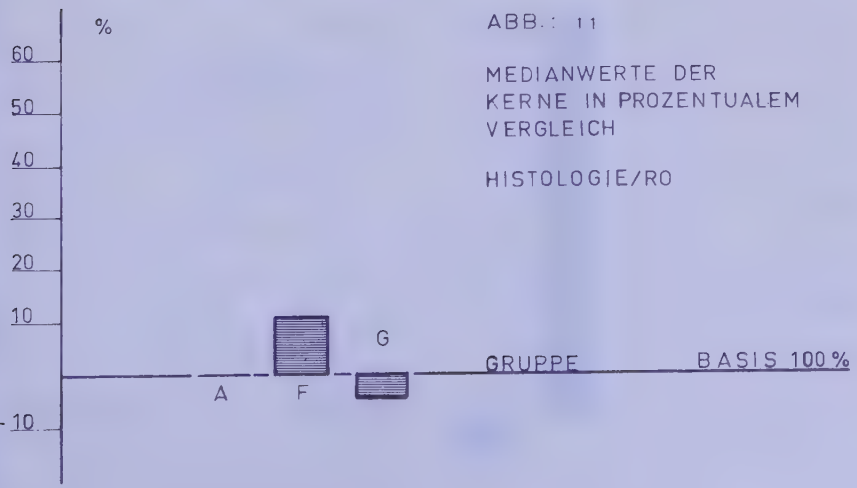


ABB.: 11

MEDIANWERTE DER KERNE IN PROZENTUALEM VERGLEICH

HISTOLOGIE/RO

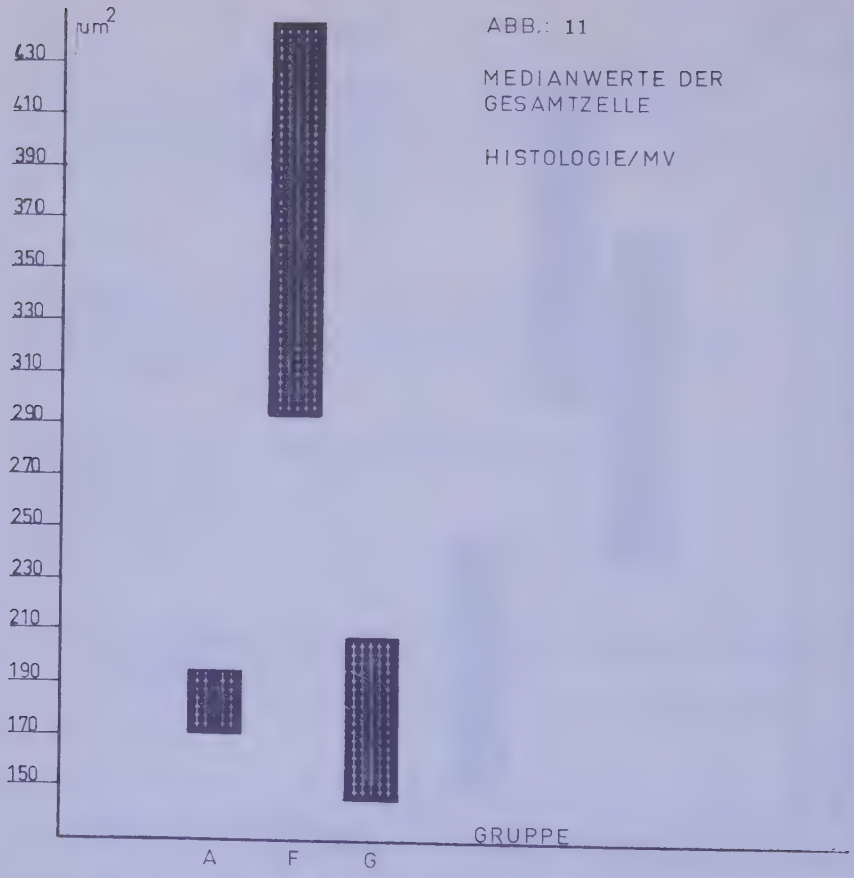


ABB.: 11

MEDIANWERTE DER GESAMTZELLE

HISTOLOGIE/MV

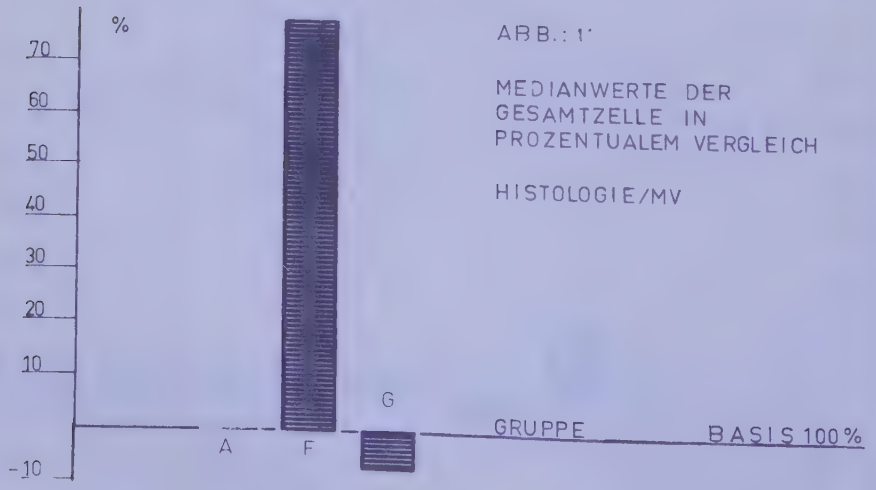


ABB.: 1'

MEDIANWERTE DER GESAMTZELLE IN PROZENTUALEM VERGLEICH

HISTOLOGIE/MV

Tabelle 9

Medianwerte der Gesamtzelle Histologie/MV			
	G r u p p e n		
Tiere	A μm^2	F μm^2	G μm^2
I	191,69	408,02	146,29
II	172,91	445,38	176,96
III	190,80	297,19	173,70
IV	195,39	295,41	158,68
V	183,57	344,87	173,05
VI	184,64	322,88	208,52
Med.w.	187,7	333,8	173,3
Proz.w.	100%	178,07%	92,51%

Zwischen den Gruppen A und F bestand ein signifikanter Unterschied, ebenso zwischen den Gruppen F und G. (Tab. 10)

Tabelle 10

Signifikanz
Mikrovideomat, Histologie (Gesamtzelle)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 6	2	2	6
M (1,2) = 6	2	1	4
M (2,3) = 1	1	1	5

2) Beim Vergleich der Kern-Plasma-Relation der histologischen Präparate erhielten wir in der Gruppe F, das sind die Versuchstiere, die über 8 Wochen Alkohol erhielten, gegenüber der Gruppe A einen Abfall der Relation um 18,02%.
In der Gruppe G (12 Wochen Alkoholapplikation) fand sich nur noch ein Abfall von 5,68% gegenüber der Kontrollgruppe A.
(Tab. 11, Abb. 14 u. 15)

Tabelle 11

Medianwerte der Kern-Plasma-Relation Histologie/MV			
	G r u p p e n		
Tiere	A	F	G
I	0,1882	0,1192	0,1134
II	0,1446	0,1445	0,0747
III	0,1782	0,1230	0,0976
IV	0,1033	0,1514	0,1094
V	0,1237	0,1229	0,1222
VI	0,1552	0,1198	0,1391
Med.w.	0,1499	0,1229	0,1414
Proz.w.	100%	81,98%	94,32%

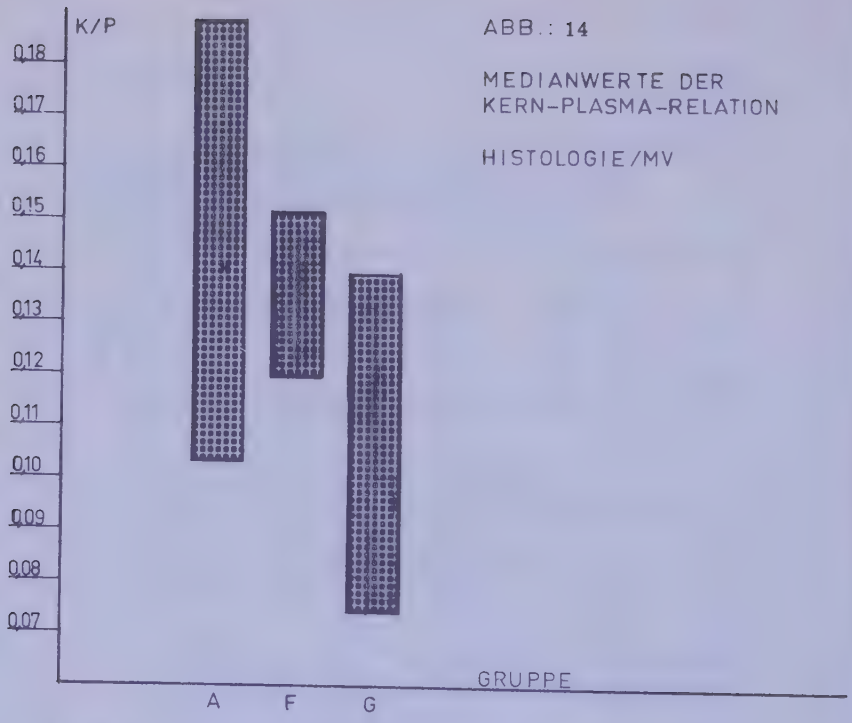


ABB.: 14

MEDIANWERTE DER KERN-PLASMA-RELATION

HISTOLOGIE/MV

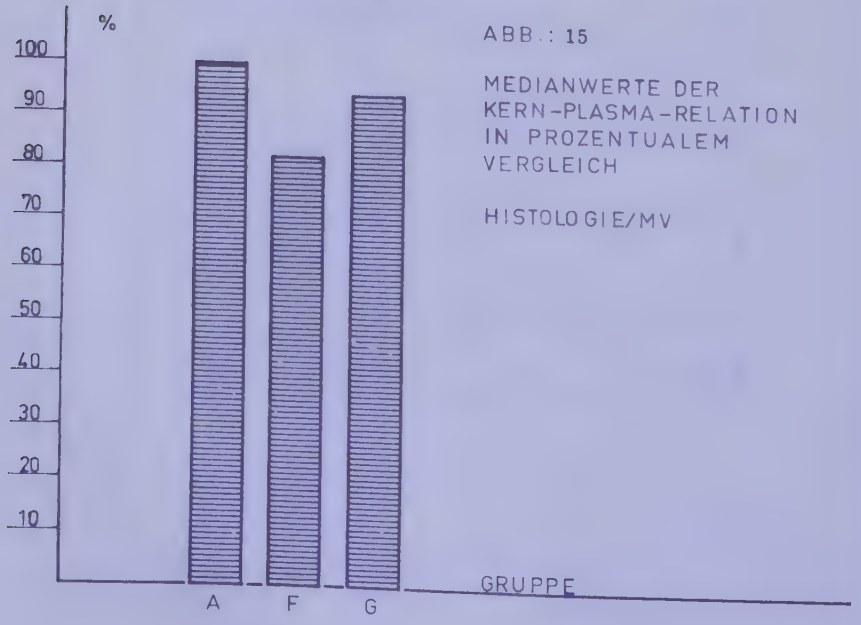


ABB.: 15

MEDIANWERTE DER KERN-PLASMA-RELATION IN PROZENTUALEM VERGLEICH

HISTOLOGIE/MV

In der statistischen Auswertung erhielten wir keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. (Tab. 12)

Tabelle 12

Signifikanz
Mikrovideomat, Histologie (Kern-Plasma-Relation)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 4	2	2	6
M (1,2) = 3	2	1	4
M (2,3) = 2	1	1	5

3) Die Kernflächen der Belegzellen in dieser Untersuchungsreihe wiesen in der Gruppe F eine Flächenvergrößerung von 60,47% gegenüber der Anfangsgruppe A auf. Eine Verkleinerung der Kerne von 29,24% fanden wir in Gruppe G im Vergleich zur Gruppe A. (Tab. 13, Abb. 16 u. 17)

Tabelle 13

Medianwerte der Kerne Histologie/MV			
	G r u p p e n		
Tiere	A μm^2	F μm^2	G μm^2
I	35,73	42,65	14,39
II	21,37	50,37	12,65
III	27,01	32,27	17,36
IV	18,44	37,87	15,94
V	21,76	37,66	18,14
VI	25,31	34,97	24,82
Med.w.	23,53	37,76	16,65
Proz.w.	100%	160,47%	70,76%

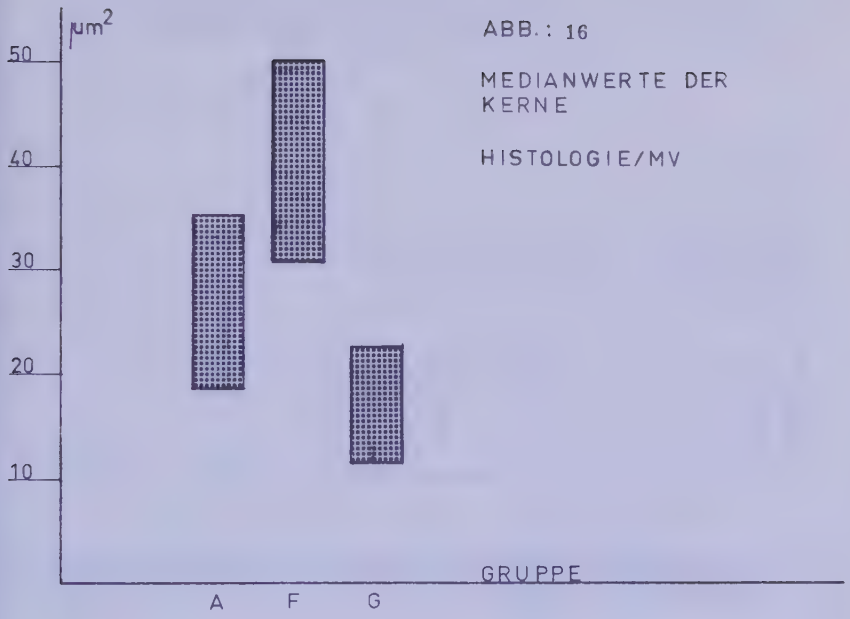


ABB.: 16

MEDIANWERTE DER KERNE

HISTOLOGIE/MV

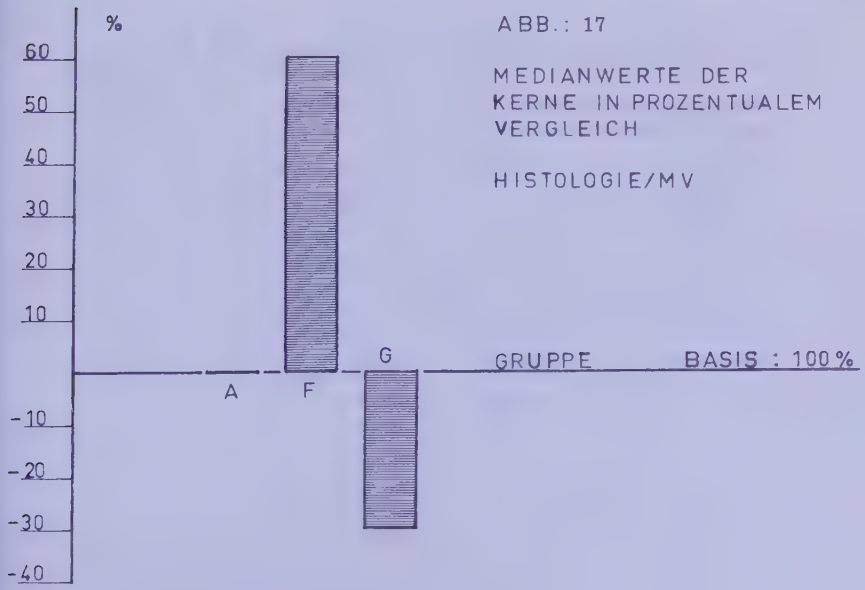


ABB.: 17

MEDIANWERTE DER KERNE IN PROZENTUALEM VERGLEICH

HISTOLOGIE/MV

Deutlich signifikante Werte erhielten wir bei der Gegenüberstellung der Gruppen A und F sowie F und G. Kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen A und G. (Tab. 14)

Tabelle 14

Signifikanz
Mikrovideomat, Histologie (Kern)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 6	2	2	6
M (1,2) = 4	2	1	4
M (2,3) = 3	1	1	5

c) Untersuchung mit dem Revolverokular an zytologischen Präparaten

1) Die quantitativen-morphologischen Befunde, die wir unter Benutzung des Revolverokulars im zytologischen Ausstrichverfahren nach Papanicolaou von den Belegzellen erhalten haben, zeigten in der Gruppe F eine Zunahme der Fläche der Zellen um 51,4% im Vergleich zur Kontrollgruppe A. Nach 8 Tagen Alkoholbehandlung - Gruppe B - lag eine Vergrößerung der Zellfläche um nur 8,6% vor. Bei den über 12 Wochen mit Alkohol behandelten Tieren der Gruppe G wiesen die Belegzellen im Vergleich zu der Gruppe A nur noch eine Zunahme der Fläche von 15,3% auf, das bedeutete zur Gruppe F eine relative Verringerung um 36,1%.

Die Gruppen A und D als Kontrollgruppen ohne Alkoholapplikation zeigten nur minimale Abweichungen der Meßergebnisse. (Tab. 15, Abb. 18 u. 19)

Tabelle 15

Medianwerte der Gesamtzelle Zytologie/RO							
	G r u p p e n						
Tiere	A μm^2	B μm^2	C μm^2	D μm^2	E μm^2	F μm^2	G μm^2
I	312,53	336,34	363,13	321,46	479,21	488,14	386,94
II	309,55	321,46	404,80	333,36	488,14	473,26	383,96
III	315,50	351,22	386,94	312,53	479,21	476,24	360,15
IV	309,55	354,20	375,03	348,25	452,42	467,31	333,36
V	318,48	342,29	407,78	333,36	446,47	464,33	363,13
VI	318,48	339,32	375,03	321,46	467,31	488,14	339,32
Med.w.	313,5	340,5	380,5	327,4	473,2	474,5	361,5
Proz.w.	100	108,6	121,4	104,4	151,1	151,4	115,3

ABB.: 18

MEDIANWERTE DER
GESAMTZELLE

ZYTOLOGIE/RO

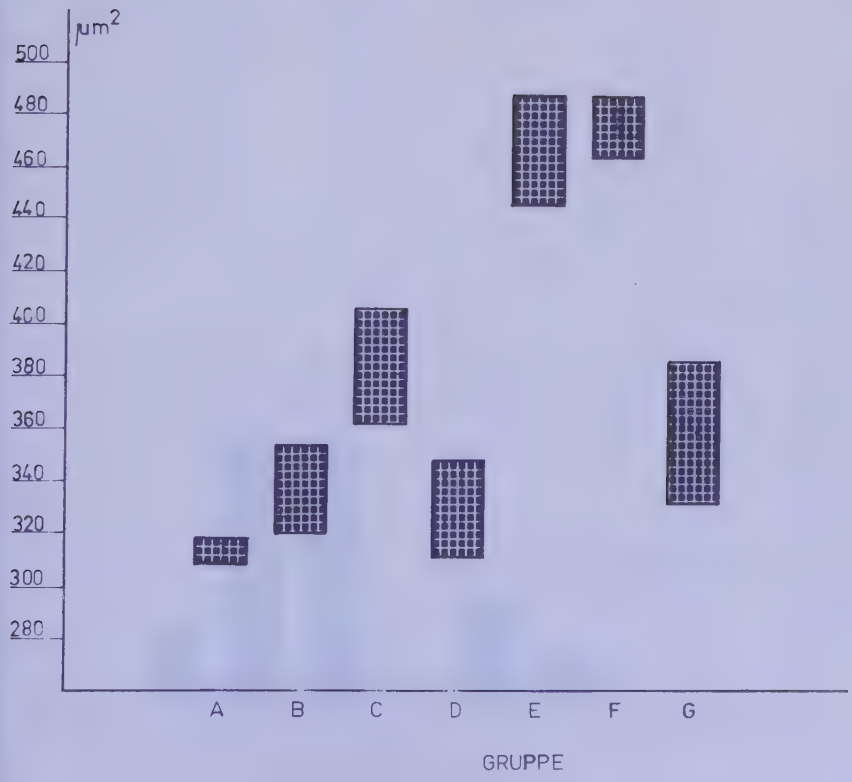
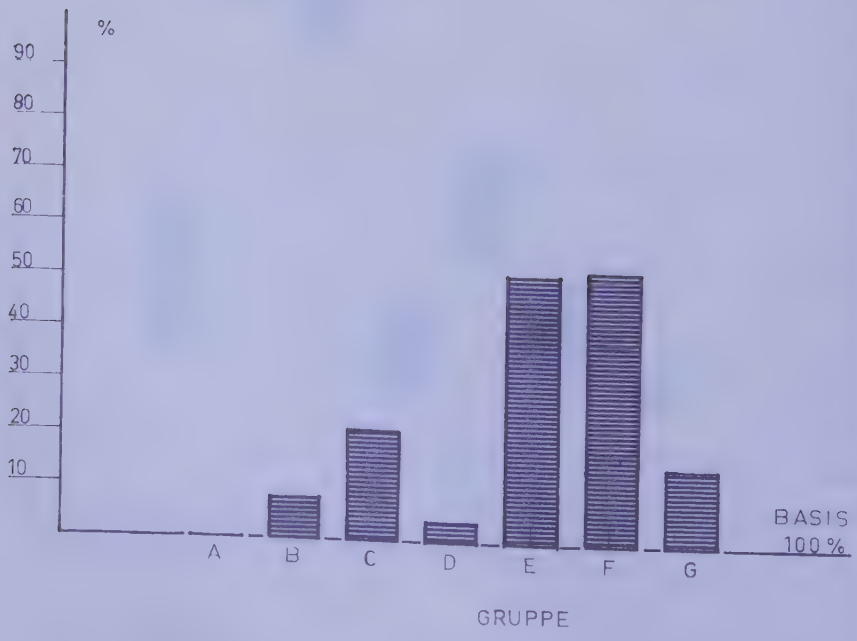


ABB.: 19

MEDIANWERTE DER
GESAMTZELLE IN
PROZENTUALEM VERGLEICH

ZYTOLOGIE/RO



Ein signifikanter Wert ließ sich zwischen den Gruppen A und F errechnen. Ferner bestanden signifikante Ergebnisse in den Gruppen B, C und E zur Gruppe A. Keine signifikanten Unterschiede ergaben sich zwischen den Gruppen E und F. (Tab. 16)

Tabelle 16

Signifikanz
Revolverokular, Zytologie (Gesamtzelle)
K (Gruppen) = 7 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,7) = 6	6	6	7
M (1,6) = 6	6	5	5
M (1,5) = 6	6	4	5
M (1,4) = 6	6	3	4
M (1,3) = 6	6	2	3
M (1,2) = 2	6	1	3
M (6,7) = 5	1	1	5
M (5,7) = 6	2	2	6
M (4,7) = 6	3	3	6
M (3,7) = 6	4	4	6
M (2,7) = 6	5	5	6

2) Auch in der zytologischen Untersuchungsreihe wurde die Kern-Plasma-Relation errechnet. Eine Gegenüberstellung der Daten der Gruppe A und F wies eine Reduzierung der Relation um die Hälfte (52%) auf.

Die Kontrollgruppe D zeigte im Verhältnis zur

Kontrollgruppe A eine Abnahme der Kern-Plasma-Relation um 33,2%. Wie oben bereits erwähnt, war keine nennenswerte Veränderung der Belegzellflächen erfolgt, so daß die Ursache lediglich in den Kernen liegen konnte. Tatsächlich fanden wir eine Kernverkleinerung von 35,38% bei den Versuchstieren der Gruppe D.

Beim Vergleich der Gruppe A mit der Gruppe G ergab sich eine Abnahme der Kern-Plasma-Relation um 40,6%. Dieser Wert lag über dem der Gruppe F im Sinne einer Zunahme der Kern-Plasma-Relation, somit in einer Verkleinerung der Zellfläche. (Tab. 17, Abb. 20 u. 21)

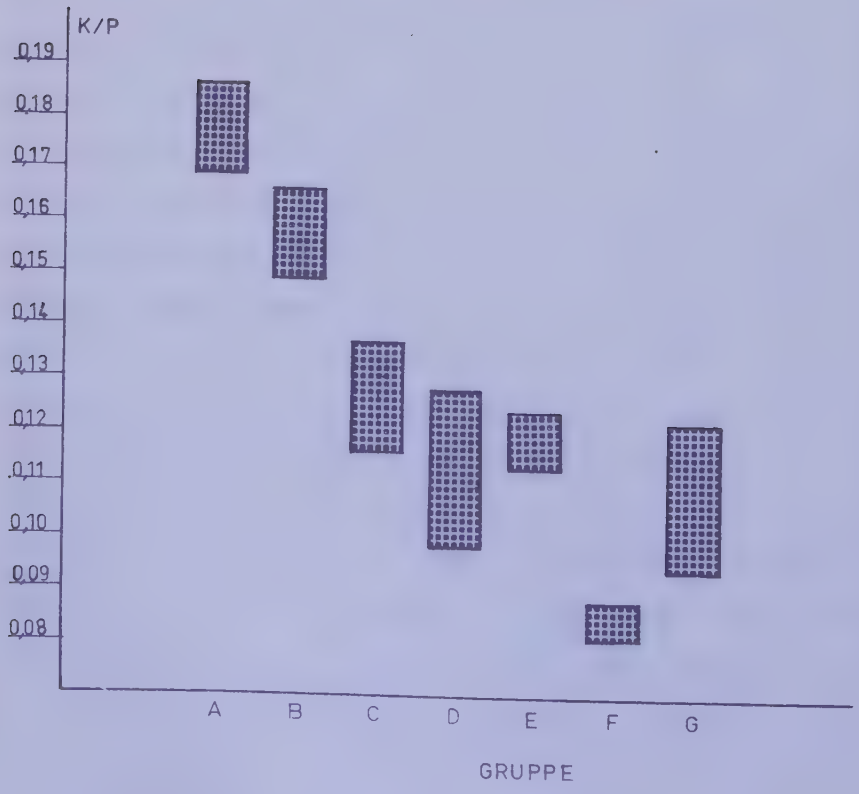
Tabelle 17

Medianwerte der Kern-Plasma-Relation Zytologie/RO							
	G r u p p e n						
Tiere	A	B	C	D	E	F	G
I	0,1752	0,1598	0,1379	0,1285	0,1217	0,0880	0,1066
II	0,1868	0,1666	0,1190	0,1173	0,1136	0,0817	0,0993
III	0,1758	0,1507	0,1270	0,1185	0,1139	0,0827	0,1031
IV	0,1714	0,1491	0,1164	0,1212	0,1249	0,0817	0,1225
V	0,1696	0,1551	0,1198	0,1121	0,1241	0,0880	0,0940
VI	0,1767	0,1572	0,1201	0,0980	0,1141	0,0855	0,1091
Med.w.	0,175	0,156	0,119	0,117	0,117	0,0841	0,1048
Proz.w.	100	89,1	68,0	66,85	66,8	48,0	59,4

ABB.: 20

MEDIANWERTE DER
KERN-PLASMA-RELATION

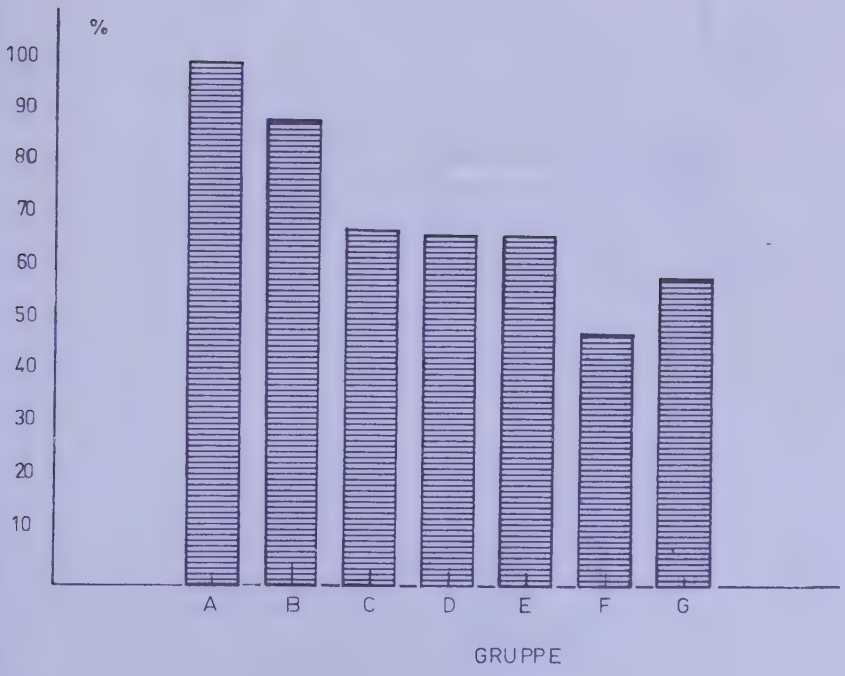
ZYTOLOGIE/RO



ARB.: 21

MEDIANWERTE DER
KERN-PLASMA-RELATION
IN PROZENTUALEM
VERGLEICH

ZYTOLOGIE/RO



Statistisch ergab sich ein signifikanter Wert zwischen den Gruppen A und F, signifikante Werte zwischen den Gruppen B, C sowie E zur Gruppe A. (Tab. 18)

Tabelle 18

Signifikanz
Revolverokular, Zytologie (Kern-Plasma-Relation)
K (Gruppen) = 7 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,7) = 6	6	6	7
M (1,6) = 6	6	5	5
M (1,5) = 6	6	4	5
M (1,4) = 6	6	3	4
M (1,3) = 6	6	2	3
M (1,2) = 6	6	1	3
M (6,7) = 6	1	1	5
M (5,7) = 6	2	2	6
M (4,7) = 6	3	3	6
M (3,7) = 6	4	4	6
M (2,7) = 6	5	5	6

3) Die Korngrößen der Belegzellen in der Untersuchung mit dem Revolverokular an zytologischen Präparaten ergaben eine Kernverkleinerung um 30,67% in den Gruppen F und G gegenüber der Gruppe A. (Tab. 19, Abb. 22 u. 23)

Tabelle 19

Medianwerte der Kerne Zytologie/RO			
	Gruppen		
Tiere	A μm^2	F μm^2	G μm^2
I	55,06	38,69	44,64
II	58,04	38,69	38,69
III	56,55	41,18	35,71
IV	53,57	38,69	38,69
V	53,57	41,67	32,74
VI	56,55	38,69	38,69
Med.w.	55,80	38,69	38,69
Proz.w.	100%	69,33%	69,33%

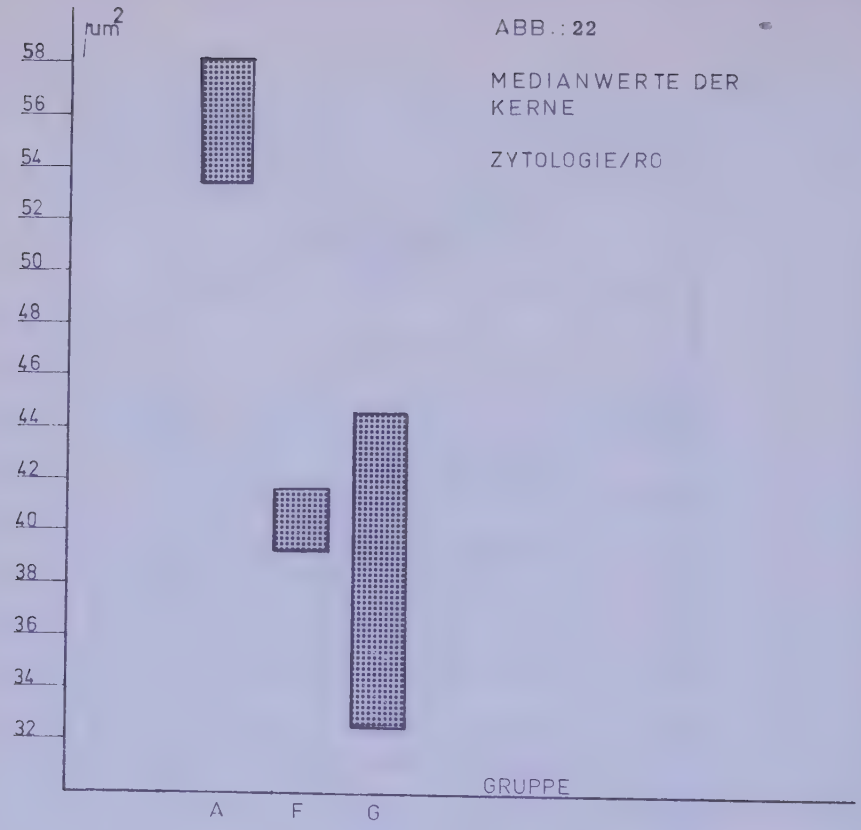


ABB.: 22

MEDIANWERTE DER KERNE

ZYTOLOGIE/RO

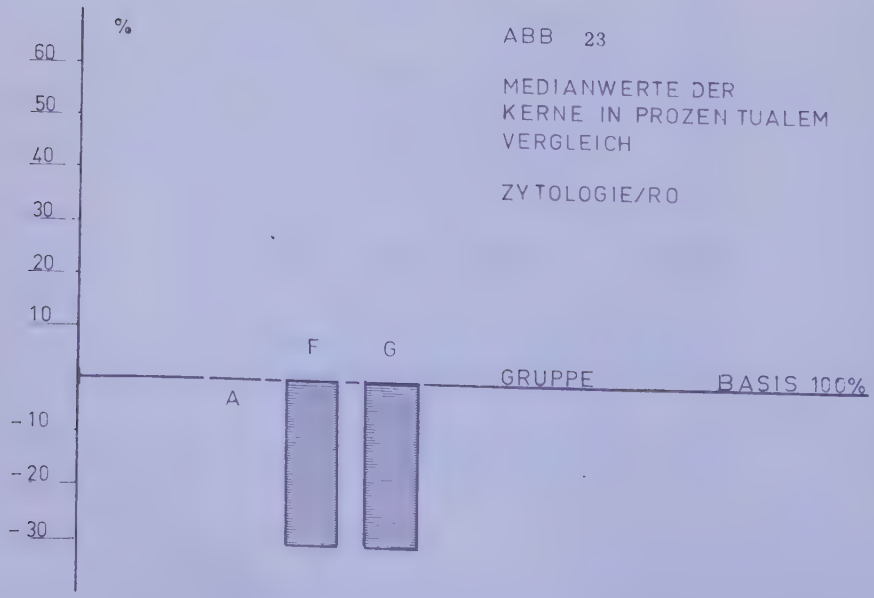


ABB 23

MEDIANWERTE DER KERNE IN PROZENTUALEM VERGLEICH

ZYTOLOGIE/RO

Wir erhielten signifikante Werte in den Gruppen F und G zur Gruppe A. (Tab. 20)

Tabelle 20

Signifikanz
Revolverokular, Zytologie (Kerne)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 6	2	2	6
M (1,2) = 6	2	1	4
M (2,3) = 1	1	1	5

d) Untersuchung mit dem Mikrovideomat an zytologischen Präparaten

1) Zur Bestimmung der Zellflächen mit dem Mikrovideomat an zytologischen Präparaten wurden nur die Gruppen A, F und G herangezogen.

Die Messungen zeigten folgende Ergebnisse: Die Gruppe F (8 Wochen Alkoholapplikation) zeigte gegenüber der Gruppe A eine Vergrößerung der Zellfläche um 41,03%; bei der Gruppe G konnte gegenüber der Gruppe A nur eine Vergrößerung der Zellfläche um 2,9% festgestellt werden. (Tab. 21, Abb. 24 u. 25)

Tabelle 21

Medianwerte der Gesamtzelle Zytologie/MV			
	Gruppen		
Tiere	A μm^2	F μm^2	G μm^2
I	429,84	529,53	407,85
II	402,73	579,94	427,81
III	404,25	569,63	412,86
IV	390,22	592,11	426,78
V	417,41	534,79	429,72
VI	410,54	630,06	402,31
Med.w.	407,3	574,7	419,82
Proz.w.	100%	141,03%	102,9%

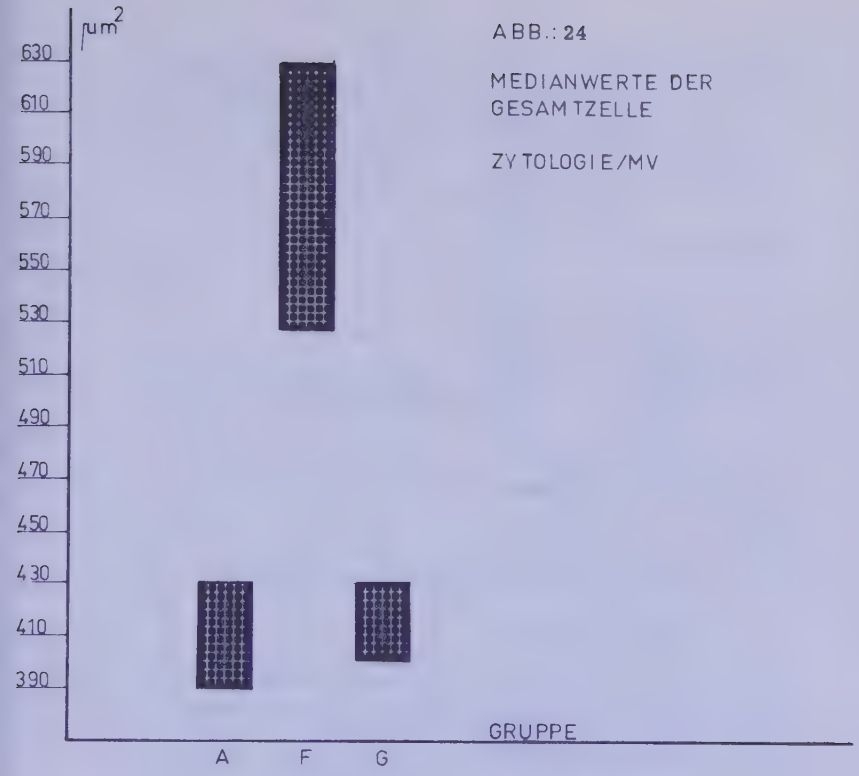


ABB.: 24

MEDIANWERTE DER GESAMTZELLE

ZYTOLOGIE/MV

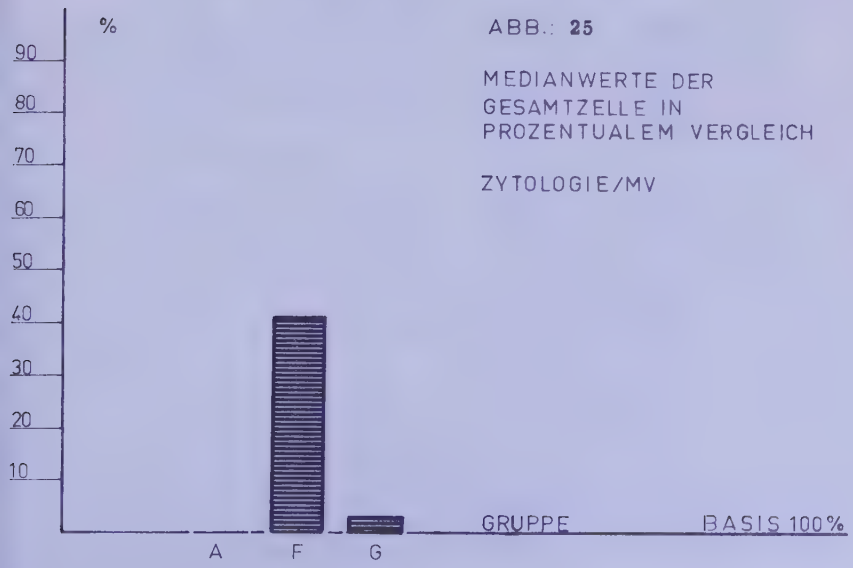


ABB.: 25

MEDIANWERTE DER GESAMTZELLE IN PROZENTUALEM VERGLEICH

ZYTOLOGIE/MV

Die statistische Auswertung ergab eine signifikante Differenz zwischen den Gruppen A und F und einen signigikanten Wert zwischen Gruppe F und G. (Tab. 22)

Tabelle 22

Signifikanz
Mikrovideomat, Zytologie (Gesamtzelle)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 6	2	2	6
M (1,2) = 6	2	1	4
M (2,3) = 1	1	1	5

2) Bei der zytologischen Untersuchungsreihe mit dem Mikrovideomat erhielten wir einen Abfall der Kern-Plasma-Relation um 36,51% in der Gruppe F gegenüber der Kontrollgruppe A. In der Gruppe G wurde nur noch ein Abfall der Kern-Plasma-Relation von 11,41% im Vergleich zur Gruppe A gefunden. (Tab. 23, Abb. 26 u. 27)

Tabelle 23

Medianwerte der Kern-Plasma-Relation Zytologie/MV			
	Gruppen		
Tiere	A	F	G
I	0,1104	0,0716	0,1164
II	0,0895	0,0620	0,0947
III	0,1180	0,0857	0,1579
IV	0,1146	0,0654	0,0866
V	0,0789	0,0768	0,0917
VI	0,1001	0,0524	0,0880
Med.w.	0,1052	0,0668	0,0932
Proz.w.	100%	63,49%	88,59%

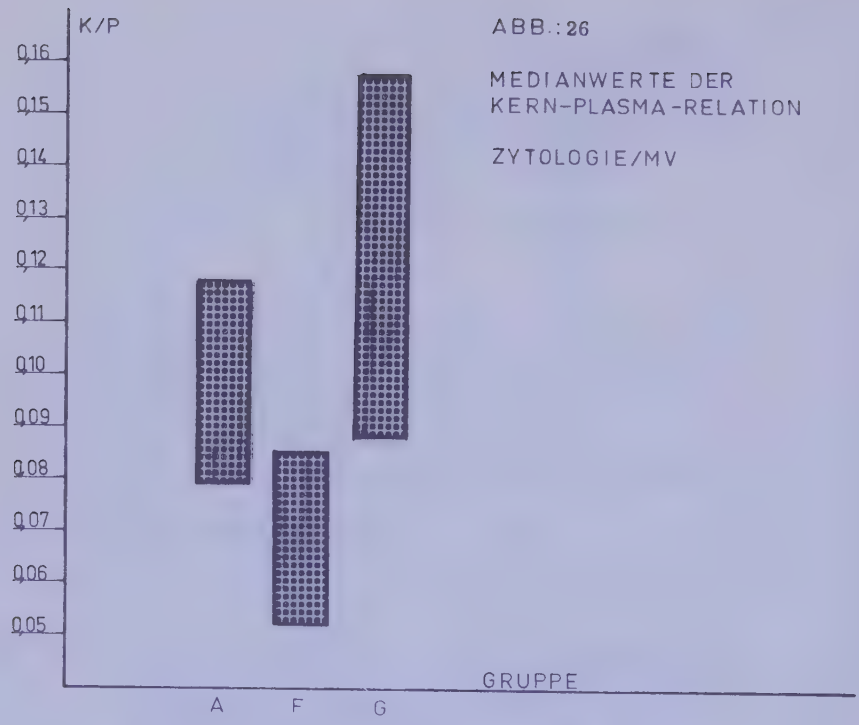


ABB.: 26

MEDIANWERTE DER KERN-PLASMA-RELATION

ZYTOLOGIE/MV

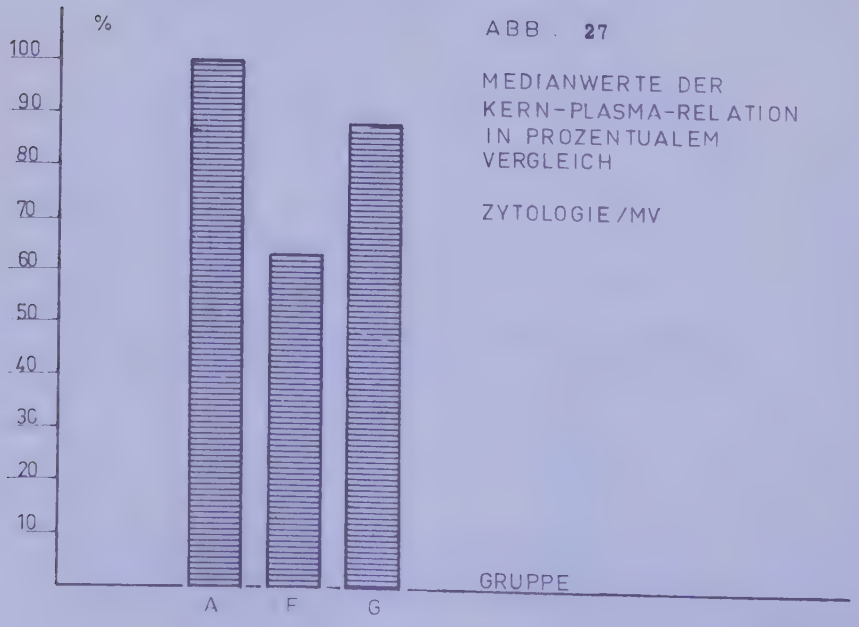


ABB. 27

MEDIANWERTE DER KERN-PLASMA-RELATION IN PROZENTUALEM VERGLEICH

ZYTOLOGIE/MV

Signifikante Werte ließen sich statistisch zwischen den Gruppen A und F sowie F und G errechnen. Zwischen den Gruppen A und G gab es keinen signifikanten Unterschied. (Tab. 24)

Tabelle 24

Signifikanz
Mikrovideomat, Zytologie (Kern-Plasma-Relation)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 6	2	2	6
M (1,2) = 1	2	1	4
M (2,3) = 5	1	1	5

3) Die Kernflächen der Belegzellen zeigten in der Gruppe F eine Abnahme der Fläche um 5,46% und in der Gruppe G um 6,11% gegenüber der Gruppe A. (Tab. 25, Abb. 28 u. 29)

Tabelle 25

Medianwerte der Kerne Zytologie/MV			
	Gruppen		
Tiere	A μm^2	F μm^2	G μm^2
I	41,36	35,70	37,20
II	33,26	32,26	37,47
III	43,38	48,14	55,26
IV	43,07	39,54	37,43
V	29,30	41,83	34,67
VI	38,23	32,95	34,43
Med.w.	39,79	37,62	37,36
Proz.w.	100%	94,54%	93,89%

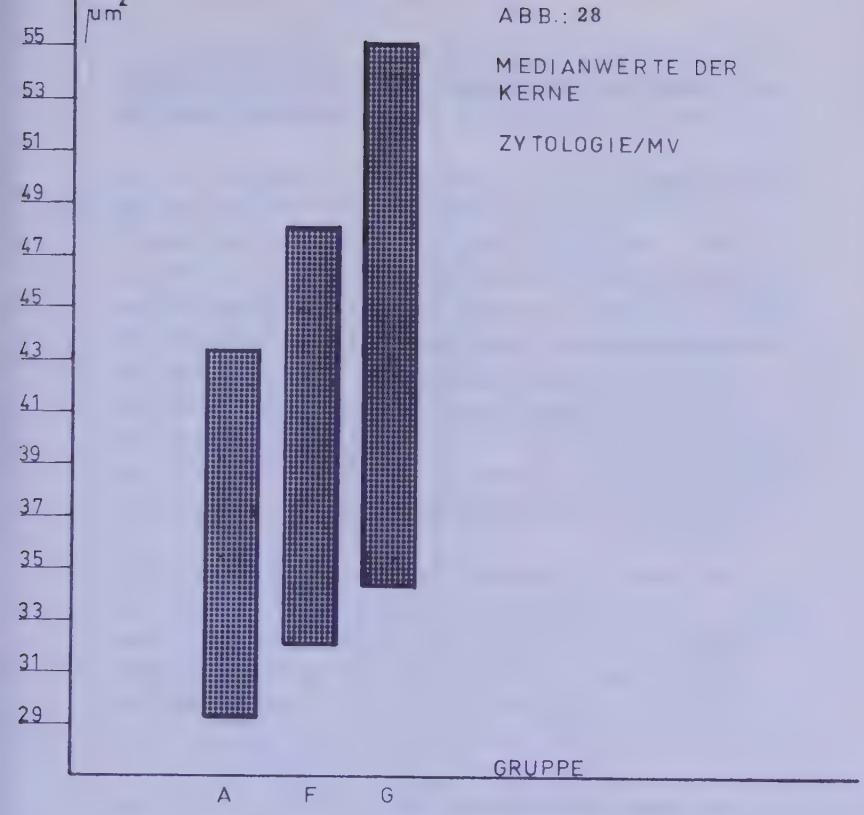


ABB.: 28

MEDIANWERTE DER KERNE

ZYTOLOGIE/MV

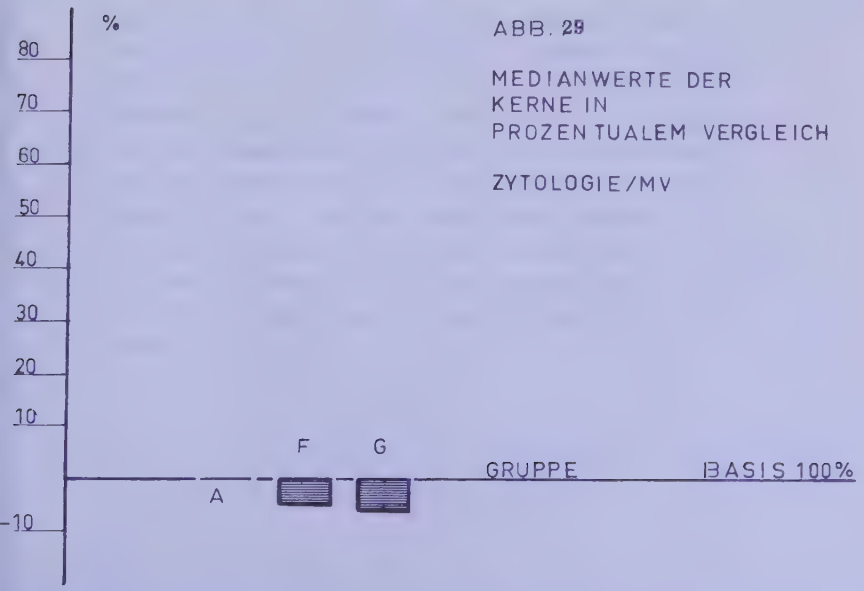


ABB. 29

MEDIANWERTE DER KERNE IN PROZENTUALEM VERGLEICH

ZYTOLOGIE/MV

Wir erhielten statistisch keine signifikanten Werte zwischen den Gruppen A, F und G. (Tab. 26)

Tabelle 26

Signifikanz
Mikrovideomat, Zytologie (Kerne)
K (Gruppen) = 3 n (Tiere) = 6

i j	k-i	j-i	m
M (1,3) = 1	2	2	6
M (1,2) = 1	2	1	4
M (2,3) = 1	1	1	5

e) Vergleich der Messungen mit dem Revolverokular und dem Mikrovideomat an zytologischen Präparaten

Bei dem Vergleich der Messungen mit dem Revolverokular und dem Mikrovideomat an zytologischen Präparaten wurden nur die Kontrollgruppe A und die Gruppe F - Alkoholapplikation für 8 Wochen - berücksichtigt.
Bei den Messungen mit dem Mikrovideomaten erhielten wir eine Zunahme der Gesamtzellfläche (Zytoplasma und Kern) der Belegzellen um 93,8 μm^2 in der Gruppe A gegenüber den Werten gemessen mit dem Revolverokular. In der Gruppe F fand sich eine Zunahme der Gesamtzellfläche von 100,2 μm^2.

Beim Vergleich der Kernflächen zeigte sich eine Abnahme der Kernfläche um 16,01 μm^2 in der Gruppe A gemessen mit dem Mikrovideomaten. Ein Unterschied von 1,37 μm^2 im Sinne einer Abnahme der Kernflächen wurde in der Gruppe F mit dem Mikrovideomaten gemessen. (Abb. 30)

Zum Vergleich der beiden Meßmethoden wurden die einzelnen Werte als Punkte in ein rechtwinkliges Koordinatensystem aufgetragen, dabei entsprach die Abzisse der ersten und die Ordinate der zweiten Methode. Zu den Punkten wurden die entsprechenden Regressionsgeraden ermittelt und eingezeichnet. Da die Meßpunkte jedoch ziemlich dicht nebeneinander liegen, sind die erhaltenen Regressionsgeraden nur innerhalb dieser Abschnitte durch die Beobachtung abgesichert. Aus diesem Grunde wurde nur eine vorsichtige Deutung versucht.
(Tab. 27, Abb. 31)

Tabelle 27

Regressionsanalyse

Vergleich der Messungen mit dem RO und dem MV an zytologischen Präparaten

Zytologie Gruppe A

x (RO)	y (MV)
309,55	390,22
309,55	402,73
312,53	404,25
315,50	410,54
318,48	417,41
318,48	429,84

r = 0,90
y = 2,99 x - 530,35

Zytologie Gruppe F

x (RO)	y (MV)
464,33	529,53
467,31	534,79
473,26	569,63
476,24	579,94
488,14	592,11
488,14	630,02

r = 0,93
y = 3,45 x - 1072,83

Vergleich der Messungen am eingebetteten Schnittmaterial mit den Ergebnissen des zytologischen Materials

Gruppe A (RO)

x (Hist.)	y (Zyt.)
125,01	301,55
127,98	309,55
127,98	312,53
127,98	315,50
130,96	318,48
130,96	318,48

r = 0,86
y = 1,58 x + 109,85

Gruppe F (RO)

x (Hist.)	y (Zyt.)
202,40	464,33
211,33	467,31
214,30	473,26
223,23	476,24
229,19	488,14
232,16	488,14

r = 0,96
y = 0,85 x + 288,70

Gruppe A (MV)

x (Hist.)	y (Zyt.)
172,91	390,22
183,57	402,73
184,64	404,25
190,80	410,54
191,69	417,41
195,39	429,84

r = 0,95
y = 1,61 x + 108,40

Gruppe F (MV)

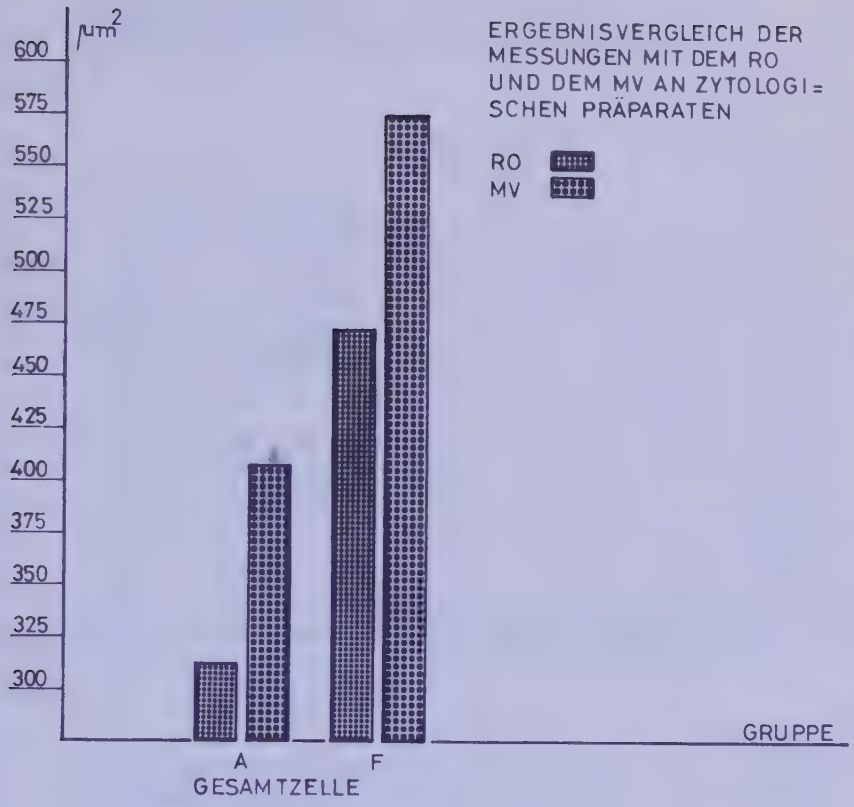
x (Hist.)	y (Zyt.)
295,41	529,53
297,19	534,79
322,88	569,63
344,87	579,94
408,02	592,11
445,38	630,06

r = 0,95
y = 0,58 x + 368,27

ABB.: 30

ERGEBNISVERGLEICH DER MESSUNGEN MIT DEM RO UND DEM MV AN ZYTOLOGISCHEN PRÄPARATEN

RO
MV



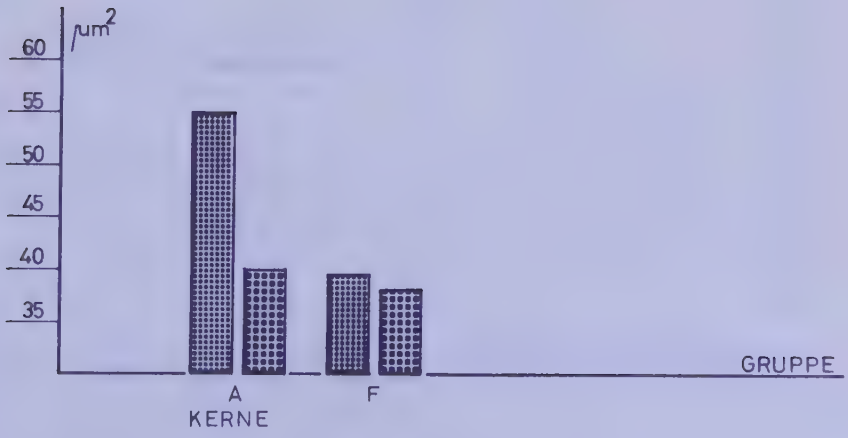
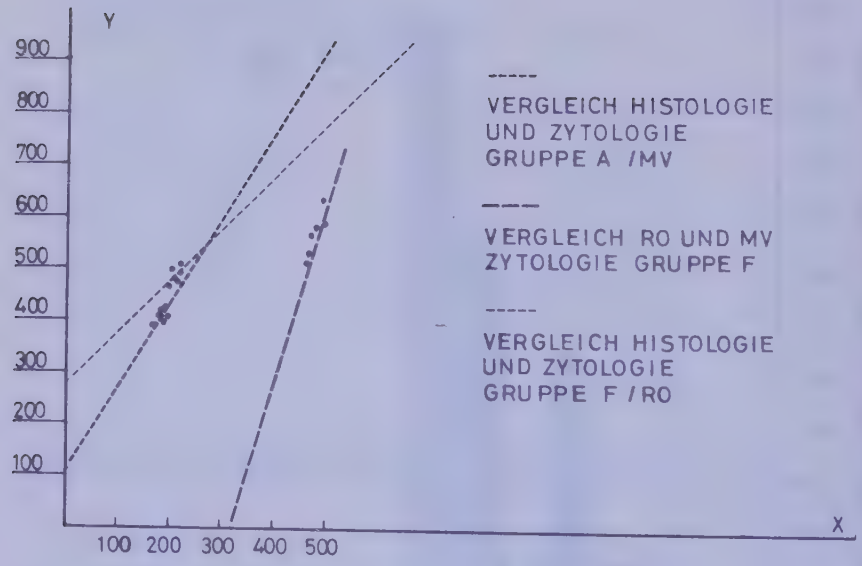
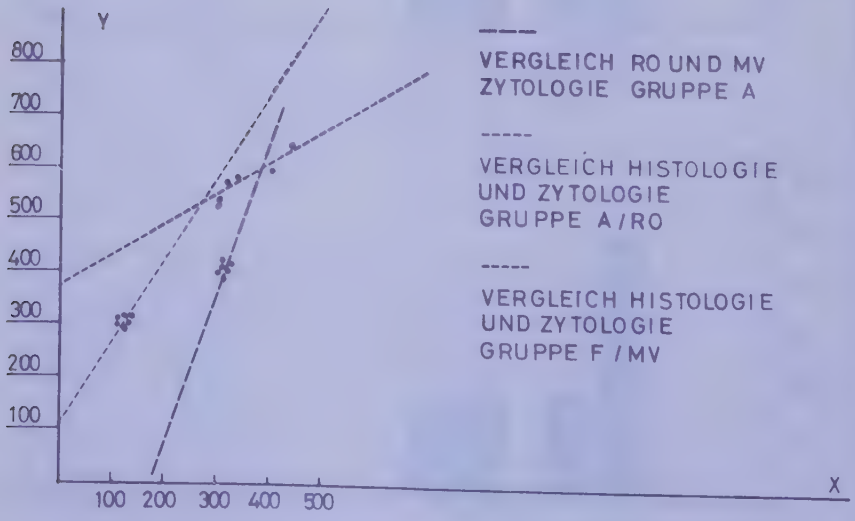


ABB.: 31

REGRESSIONSGERADEN





f) Vergleich der Messungen am eingebetteten Schnittmaterial mit den Ergebnissen des zytologischen Materials

Der Vergleich wurde nur an den Gruppen A und F vorgenommen.

In der Untersuchungsreihe der Belegzellen mit dem Revolverokular erhielten wir bei dem zytologischen Material in der Gruppe A eine Zunahme der Gesamtzellfläche von 145,11%, das bedeutet eine Vergrößerung der Belegzelle um 185,6 μm^2 im Vergleich zu den Ergebnissen am eingebetteten Material. Auch mit dem Mikrovideomat wurde in der Gruppe A eine Gesamtflächenzunahme von 116,99%, das sind 219,6 μm^2, gemessen.
Die Messungen in der Gruppe F mit dem Revolverokular zeigten in der Zytologie ebenfalls eine Größenzunahme der Belegzelle um 117,16%, das sind 256 μm^2. Mit dem Mikrovideomat wurde eine Zunahme von 72,16%, das sind 240,9 μm^2, gemessen. (Abb. 32)

Der Vergleich der Kernflächenmessungen ergab unterschiedliche Ergebnisse. Eine Zunahme der Kernfläche um 87,5%, das sind 26,04 μm^2, ließ sich mit dem Revolverokular in der Gruppe A an zytologischen Präparaten messen. Mit dem Mikrovideomat erhielten wir eine Zunahme von 69,1%, das sind 16,26 μm^2. In der Gruppe F wurde mit dem Revolverokular eine Zunahme der Kernfläche von 18,1%, das sind 5,95 μm^2, gemessen. Mit dem Mikrovideomat ließ sich keine Kernflächenänderung messen. (Abb. 33)

ABB.: 32

ERGEBNISVERGLEICH DES ZYTOLOGISCHEN MATERIALS UND DES EINGEBETTETEN SCHNITTMATERIALS

GESAMTZELLE /RO UND MV

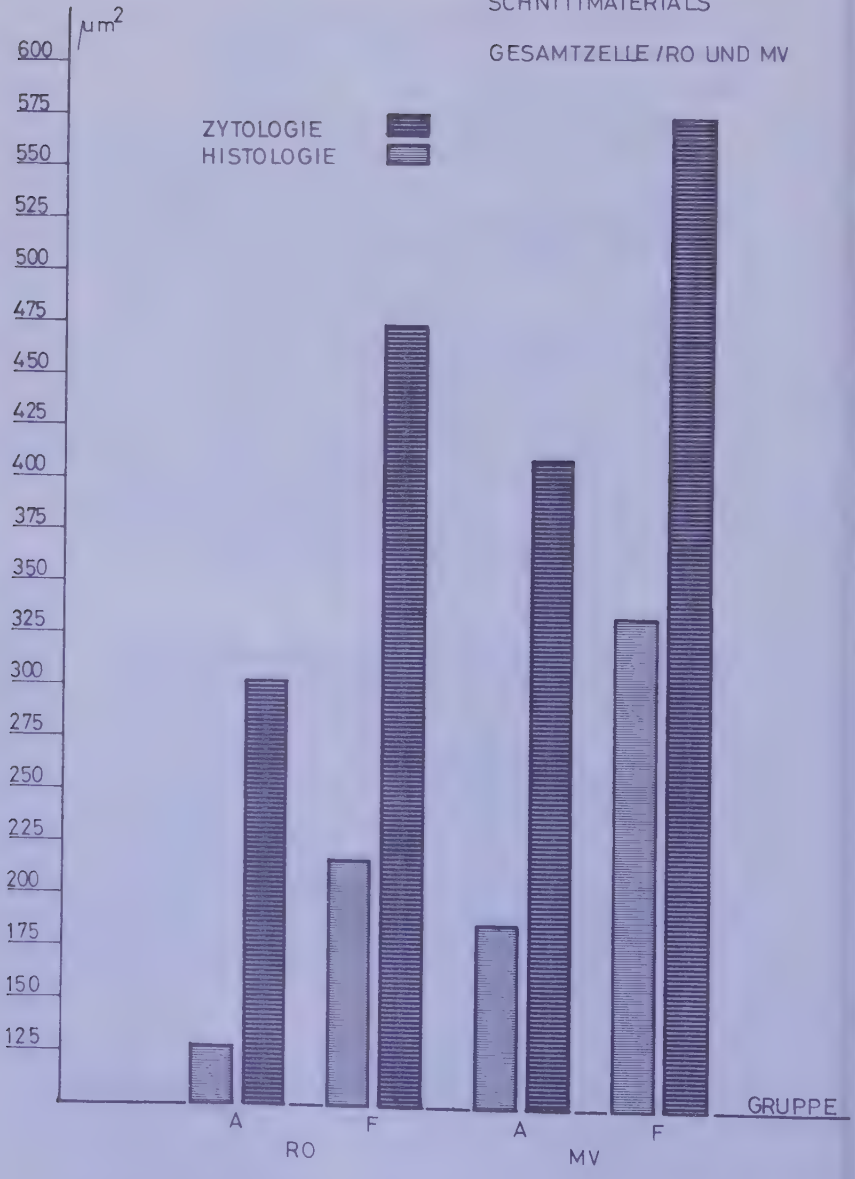
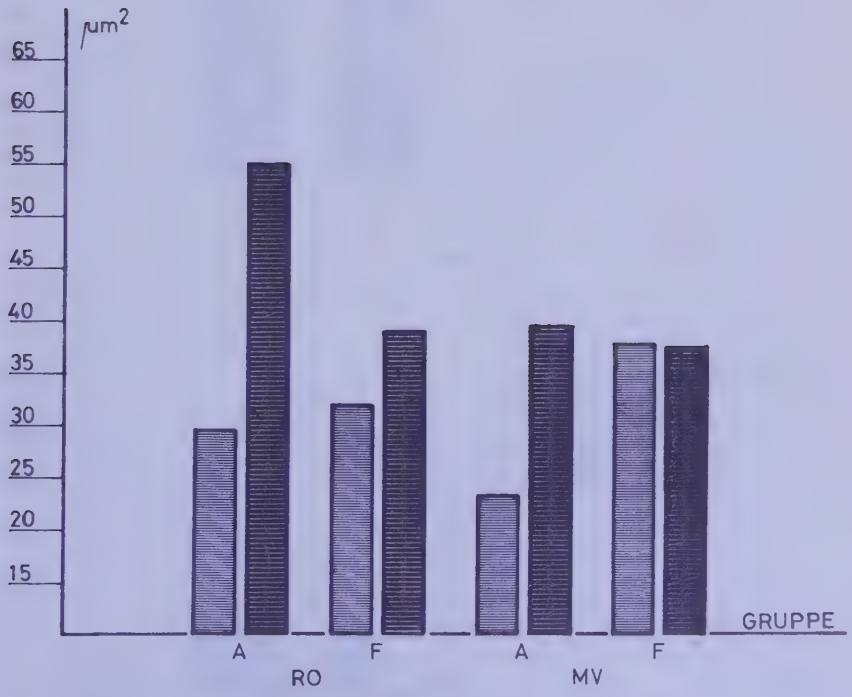


ABB.: 33

ERGEBNISVERGLEICH DES ZYTOLOGISCHEN MATERIALS UND DES EINGEBETTETEN SCHNITTMATERIALS

KERN / RO UND MV

ZYTOLOGIE
HISTOLOGIE



Aus unseren Messungen mit dem Revolverokular erhielten wir bei den histologischen Präparaten in der Gruppe A einen Schrumpfungsfaktor des Zytoplasmas von 59,18%. Dieser Schrumpfungsfaktor lag bei den Messungen mit dem Mikrovideomat um 53,92%. Mit dem Revolverokular wurde eine Kernschrumpfung von 46,67% und mit dem Mikrovideomat von 40,87% errechnet. Nach achtwöchiger Alkoholapplikation (Gruppe F) trat eine Schrumpfung des Zytoplasmas mit dem Revolverokular von 53,96% und mit dem Mikrovideomat von 41,92% auf. In der Gruppe F konnte nur mit dem Revolverokular ein Kernschrumpfungsfaktor von 15,38% errechnet werden. (Abb. 34 u. 35)

Statistisch konnte der Vergleich der Messungen am eingebetteten Material mit den Ergebnissen des zytologischen Materials mit der Regressionsanalyse gesichert werden. (Tab. 27, Abb. 31)

ABB.: 34

SCHRUMPFUNGSFAKTOR
DER GESAMTZELLE

RO
MV

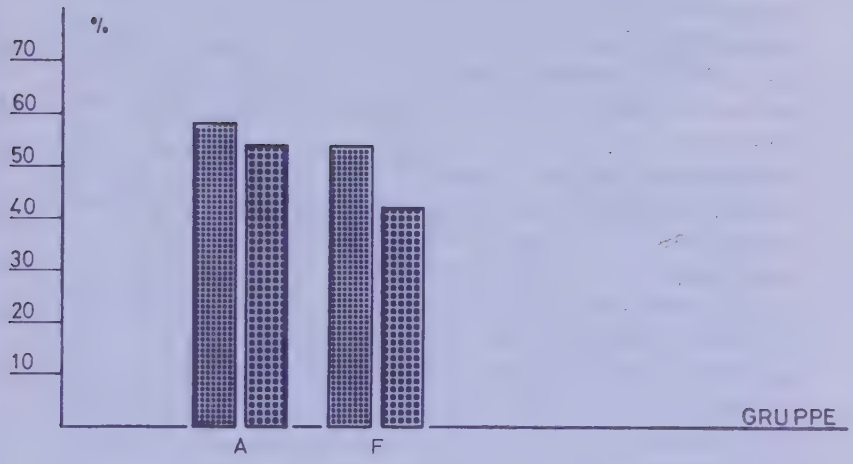
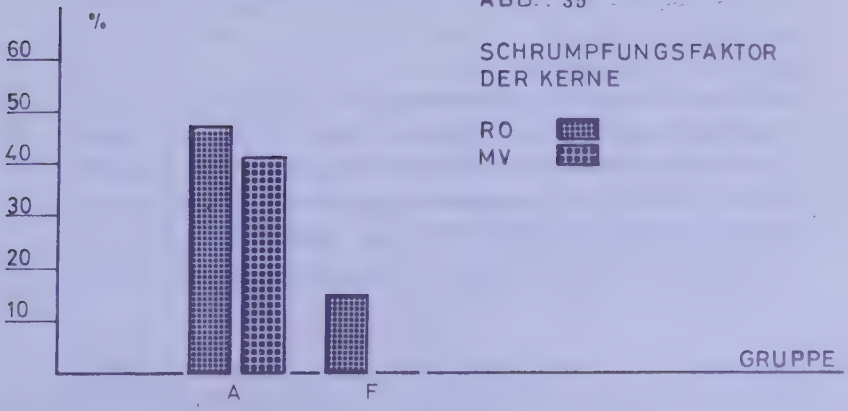


ABB.: 35

SCHRUMPFUNGSFAKTOR
DER KERNE

RO
MV



IV. DISKUSSION

Lichtmikroskopisch kommen die Belegzellen gehäuft im Drüsenhals- und im Isthmusbereich vor. Sie haben eine polygonale Form und sind größer als die Haupt- oder Zymogenzellen. Oft zeigen sie amitotische Kernteilungen. Unter Alkoholeinwirkung sind sie nach den eigenen Untersuchungen vergrößert und sollen in der gesamten Mucosa auch vermehrt auftreten (CHEY et al.).

Bei der histomorphologischen Untersuchungsreihe der Belegzellen am eingebetteten Material mit dem Revolverokular war bei Versuchstieren, die über 8 Tage eine 15%-ige Alkohollösung als einzige Trinkquelle erhielten (Gruppe B), eine Zunahme der Belegzellfläche von 44,1% im Vergleich mit Kontrollgruppe A aufgetreten. In der Gruppe F, die über 8 Wochen mit Alkohol behandelt wurde, war eine maximale Vergrößerung der Zellfläche um 71,6% gegenüber der Kontrollgruppe A zu verzeichnen. Nach 12 Wochen Alkoholapplikation (Gruppe G) war noch eine Vergrößerung der Belegzellfläche um 33% gegenüber der Gruppe A zu messen. Beim Vergleich der Gruppe G mit der Gruppe F wurde eine Verkleinerung der Zellfläche um 38,6% festgestellt. Eine zweite Kontrollgruppe über 4 Wochen ohne Alkohol (Gruppe D) wies eine geringe Zunahme der Zellfläche von 2,3% gegenüber der Kontrollgruppe A auf. (Tab. 3, Abb. 7) Diese Zellflächenzunahme sehen wir als eine Folge des Wachstums an (BRALOW und KOMAROV, SUM und PRESHAW).

Bei der Untersuchung der Korngrößen der Belegzellen zeigte sich beim Vergleich der Gruppe A mit der Gruppe F eine Vergrößerung der Kernfläche um 10,01%. In der Gruppe G sahen wir gegenüber der Gruppe A eine Kernverkleinerung von 5,01%. (Tab. 7, Abb. 11)

Die Kern-Plasma-Relationen waren entsprechend verändert; und zwar nahm sie von Gruppe A (Kontrollgruppe) zu Gruppe F ab, während sie bei der Gruppe G gegenüber der Gruppe F wieder leicht zugunsten des Kernes verändert war. (Tab. 5, Abb. 9)

Auch bei der histomorphologischen Untersuchung der Belegzellen am eingebetteten Material mit dem Mikrovideomat war in der Gruppe F (8 Wochen Alkoholapplikation) gegenüber der Gruppe A eine Zellflächenvergrößerung um 78,07% festzustellen. Nach 12 Wochen Alkoholgabe (Gruppe G) lagen die gemessenen Werte sogar um 7,49% unter denen der Kontrollgruppe A. (Tab. 9, Abb. 13)
Bei der Messung der Kernflächen der Belegzellen erhielten wir in der Gruppe F eine Vergrößerung von 60,4% gegenüber der Kontrollgruppe A. In der Gruppe G wurde im Vergleich zur Gruppe A eine Kernverkleinerung von 29,24% gemessen. (Tab. 13, Abb. 17)
Die Kern-Plasma-Relation wies in der Gruppe F einen Abfall um 18,02% und in der Gruppe G um 5,68% gegenüber der Gruppe A auf. (Tab. 11, Abb. 15)

Im zytologischen Ausstrichverfahren wurden bei Anwendung des Revolverokulars folgende Ergebnisse gewonnen:
In der Gruppe B (Versuchstiere mit einwöchiger Alkoholapplikation) erhielten wir eine Vergrößerung der Belegzellfläche um nur 8,6% gegenüber der Gruppe A. In der Gruppe F zeigten die Belegzellen eine Zunahme der Gesamtfläche um 51,4% im Vergleich zur Kontrollgruppe A. Nach 12 Wochen (Gruppe G) sahen wir nur noch eine Zunahme der Zellfläche von 15,3% im Vergleich zur Anfangsgruppe. Dies bedeutete zur Gruppe F eine relative Ver-

ringerung der Gesamtzellfläche um 36,1%. Eine weitere Kontrollgruppe (Gruppe D) wies eine geringe Zunahme der Zellfläche um 4,4% gegenüber Gruppe A auf. (Tab. 15, Abb. 19)

Bei der Berechnung der Kern-Plasma-Relation fand sich in der Gruppe F eine Reduzierung um 52% gegenüber der Gruppe A. Bei der Kontrollgruppe D errechnete sich eine Abnahme der Kern-Plasma-Relation um 33,2%. Diese Abweichung war durch eine Kernverkleinerung der Belegzellen von 35,38% bei den Versuchstieren der Gruppe D zu erklären. In der Gruppe G ließ sich eine Abnahme der Kern-Plasma-Relation um 40,6% errechnen. Im Vergleich zur Gruppe F war somit eine Zunahme erfolgt, deren Erklärung durch eine Zellflächenverkleinerung gegeben ist. (Tab. 17, Abb. 21) Die Messung der Korngrößen ergab eine Kernverkleinerung um 30,67% in den Gruppen F und G gegenüber der Gruppe A. (Tab. 19, Abb. 23)

Die Messung der Zellflächen der Belegzellen mit dem Mikrovideomat an zytologischen Präparaten zeigte in der Gruppe F (8 Wochen Alkoholapplikation) eine Vergrößerung der Zellfläche um 41,03%. Bei der Gruppe G im Vergleich zur Gruppe A konnte nur eine Vergrößerung der Zellfläche um 2,9% gemessen werden. (Tab. 21, Abb. 25) Die Kern-Plasma-Relation wies in der Gruppe F gegenüber der Gruppe A einen Abfall um 36,51% auf. In der Gruppe G wurde nur ein Abfall der Kern-Plasma-Relation von 11,41% gegenüber der Anfangsgruppe gefunden. (Tab. 23, Abb. 27) Die Kernflächen zeigten in der Gruppe F eine Verkleinerung um 5,46% und in der Gruppe G um 6,11% im Vergleich zur Gruppe A. (Tab. 25, Abb. 29)

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß bei Ratten, die 15%-igen Äthanol als einzige Trinkquelle bekommen haben, eine Vergrößerung der Belegzellen erfolgt. Diese Tendenz zeigt sich schon nach achttägiger Behandlung und wird nach 4 und 8 Wochen sehr deutlich.
Die Zellflächenvergrößerung war mit allen angewandten Methoden nachweisbar und zeigte sich sowohl am eingebetteten Schnittpräparat als auch am zytologischen Ausstrich. Nach zwölfwöchiger Alkoholapplikation war wiederum eine Abnahme der Zellgröße festzustellen, obwohl gegenüber den Ausgangswerten immer noch eine Vergrößerung von 33% vorlag. Die Verkleinerung der Kerne deuten wir als eine Folge der Aktivität (SALAMON).

CHEY et al. stellten in einer experimentellen Arbeit an Hunden, die über längere Zeit Alkohol erhalten hatten, eine Hypertrophie sowie eine geringe Hyperplasie der Belegzellen fest. Nach 40%-iger Äthanolapplikation bei Hunden über 4 Monate fand sich nach einem Monat eine Erhöhung des durchschnittlichen maximalen Säureausstoßes, die über 4 Monate bestehen blieb (YOSHIMORI et al.). Um den Anstieg des maximalen Säureausstoßes nach Alkoholgabe zu erklären, wurde von den Autoren die Belegzellmasse und die Größe der Belegzellen bestimmt. Sie fanden eine Vergrößerung des Belegzelldurchmessers um 95,3% und eine Erhöhung der Belegzellmasse um 13,6%. Andere Autoren beschrieben eine Hyperplasie der Belegzellen unter verschiedenen Noxen (REID et al. 1961, MYREN und SEMB 1962, CARD und MARKS 1960, TONGEN 1950, FOLEY und GLICK 1962, SCHMIDT et al. 1972).

Akute Alkoholgaben führten zu einer Erhöhung der Salzsäureproduktion und zu einer Zunahme des Magensaftes (DRAGSTEDT et al.). AUGUR stellte fest, daß die Durch-

blutung der Magenschleimhaut durch Alkohol erhöht wird. Hochprozentige Alkoholgaben schädigten allerdings die oberflächlichen Zellen der Schleimhaut (DINOSO). Chronische Alkoholgaben förderten im Tierexperiment die Entstehung einer chronischen Gastritis (CHEY et al.). Die ulcerogene Wirkung des Alkohols wurde bei Ratten durch einmalige Applikation von 15, 25 und 35%-igem Äthanol untersucht (DUMKE et al.). Die hervorgerufenen Mucosaschäden konnten durch chronische Gabe von 15%-igem Alkohol verstärkt werden. Die in unseren Untersuchungen gesehene Hypertrophie der Belegzellen deuten wir als Folge einer aufgezwungenen Leistungssteigerung der Belegzellen unter Alkoholeinfluß.

Aus den Ergebnissen beider Meßmethoden - Revolverokular und Mikrovideomat - war eine morphometrische Veränderung der Belegzellen unter 15%-igem Äthanol im Sinne einer Vergrößerung der Zellfläche zu ersehen (Abb. 36 u. 37). Beide Meßmethoden ergaben jedoch unterschiedliche Ergebnisse. Die mit dem Mikrovideomat am zytologischen Präparat gemessenen Zellflächen waren durchweg wesentlich größer als die mit dem Revolverokular und Integrationsstrichplatte IV ermittelten Flächen. In der Gruppe A lag der Medianwert bei Messung mit dem Mikrovideomat um 93,8 μm^2 über dem mit Revolverokular ermittelten Wert; in der Gruppe F lag er sogar um 100,2 μm^2 über dem entsprechend mit dem Revolverokular erarbeiteten Wert.

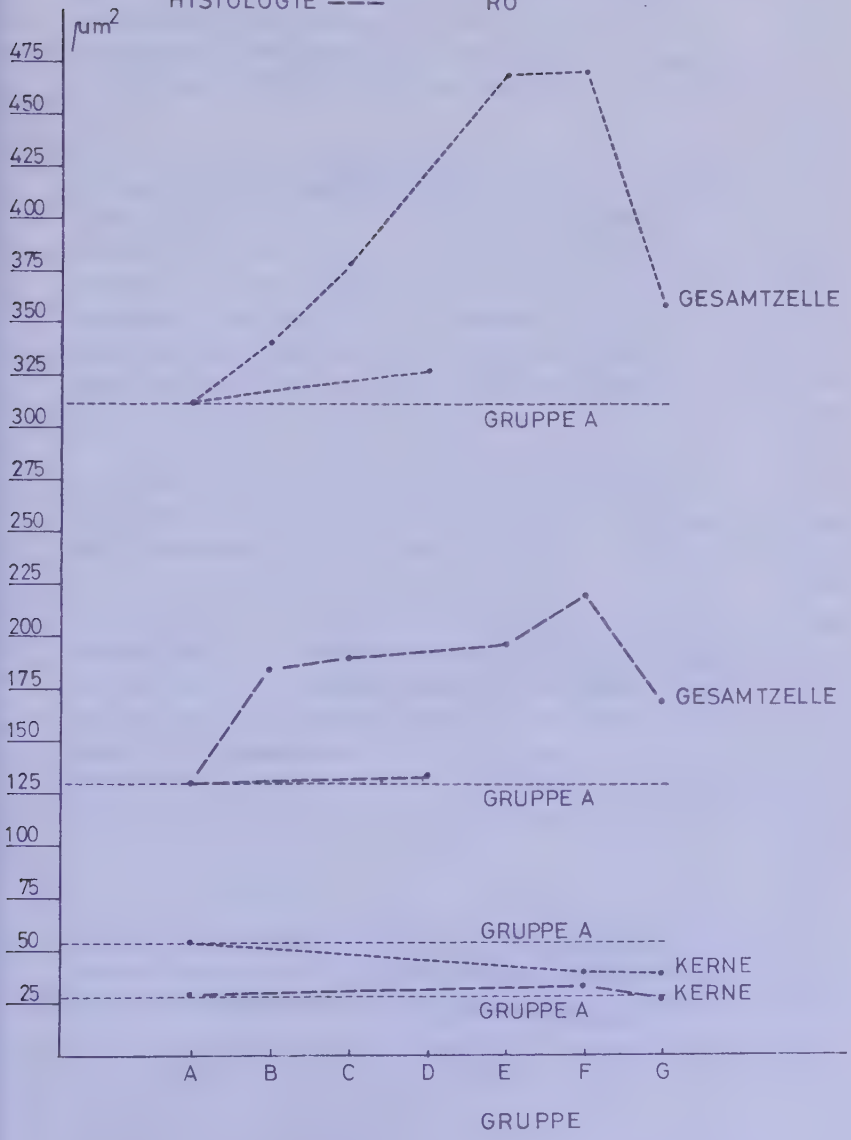
Die Anwendung des Mikrovideomat zur Vermessung der Belegzellen erforderte wegen der Einzelzellmessungen einen erheblichen Zeitaufwand. Einzelzellmessungen mußten aber durchgeführt werden, weil das interstitielle

ABB.: 36

ZELL-UND KERNFLÄCHEN = VERÄNDERUNGEN UNTER ALKOHOLEINFLUSS

ZYTOLOGIE ------
HISTOLOGIE ——

D = KONTROLLGRUPPE
RO



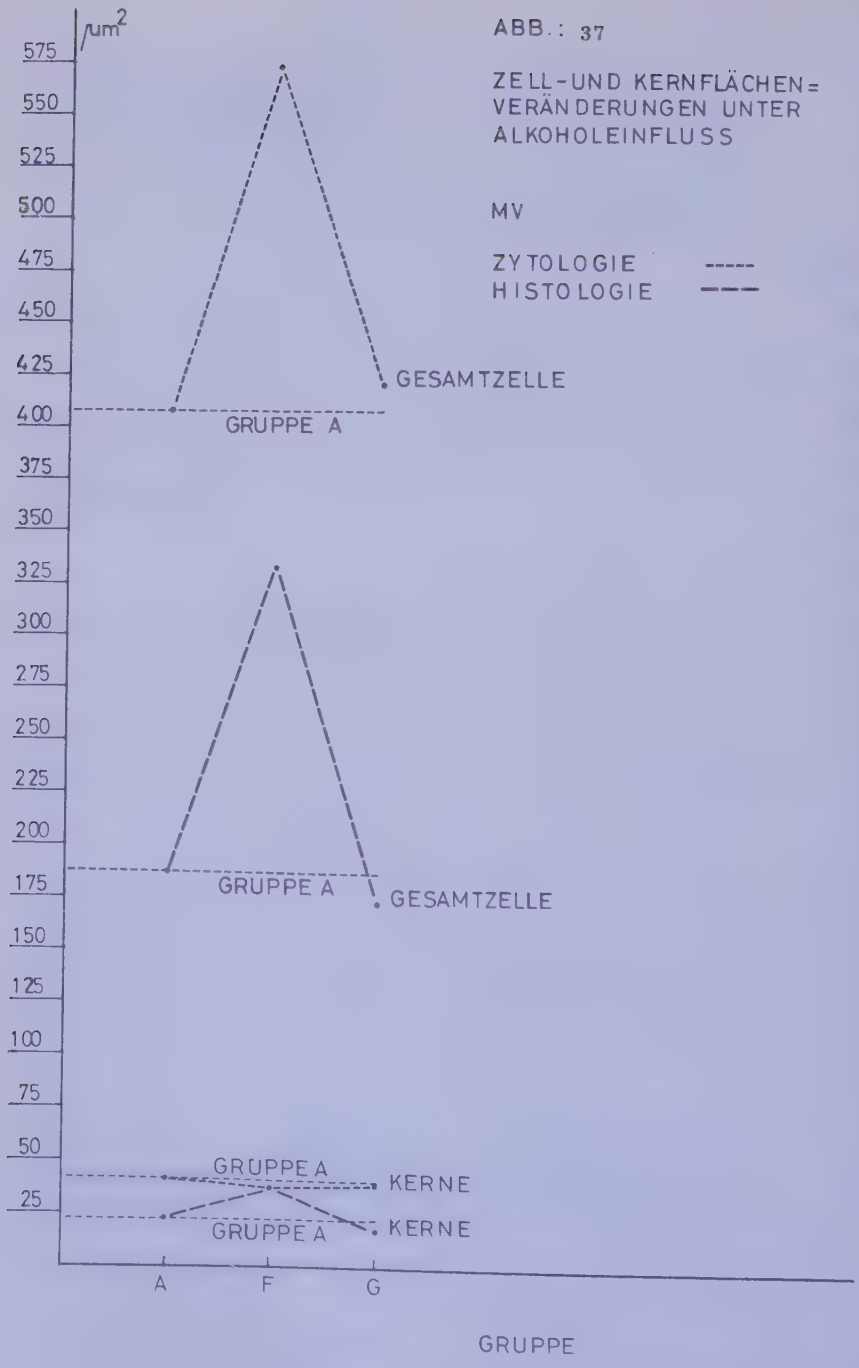


ABB.: 37
ZELL-UND KERNFLÄCHEN= VERÄNDERUNGEN UNTER ALKOHOLEINFLUSS
MV
ZYTOLOGIE
HISTOLOGIE
µm²
575
550
525
500
475
450
425
400
375
350
325
300
275
250
225
200
175
150
125
100
75
50
25
GESAMTZELLE
GRUPPE A
GRUPPE A
GESAMTZELLE
GRUPPE A
KERNE
GRUPPE A
KERNE
A
F
G
GRUPPE

Bindegewebe, die anderen Drüsenzellen und Kapillarwände mitgefärbt waren und somit im Schwarz-Weiß-Bild des Monitors wegen der ungenügenden Kontraste den Meßvorgang störten. Eine effektive morphometrische Auswertung mit dem Mikrovideomat ist nur dann möglich, wenn durch eine spezifische histochemische Färbung mit technisch hervorragenden Schnittpräparaten die Belegzellen darzustellen sind.

Die Anwendung des Mikrovideomaten im zyto- und histomorphologischen Bereich ist somit nach unseren Erfahrungen bislang nur beschränkt möglich. Sein Einsatz erfordert zudem erhebliche methodische Vorarbeiten zur kontrastreichen Darstellung der zu messenden histologischen Strukturen. Zweifellos hängt der Wert der erzielten Meßergebnisse auch von den Eigenschaften des untersuchten Gewebes (Gewebsdichte, Gewebschemismus) ab.

Die Messung mit dem Revolverokular mit Integrationsstrichplatte IV erwies sich für die vorliegende Fragestellung als günstiger.

Die teilweise sehr großen Unterschiede in den Meßergebnissen bei Anwendung beider Verfahren erklären sich unseres Erachtens aus den Schwierigkeiten und subjektiven Faktoren bei dem Diskriminierungsvorgang auf dem Monitorbild. Die gleichen Schwierigkeiten spiegeln sich auch in den großen Schwankungsbreiten der Meßwerte um den Medianwert wieder.

Beim Vergleich der Messungen am eingebetteten Schnittmaterial mit den Ergebnissen des zytologischen Materials erhielten wir in der Histologie mit dem Re-

volverokular bei den Belegzellen der unbehandelten Tiere (Gruppe A) einen Schrumpfungsfaktor des Zytoplasmas von 59,18% und des Kernes von 46,67%. Bei den Messungen mit dem Mikrovideomat war der Schrumpfungsfaktor des Zytoplasmas 53,92% und der des Kernes 40,87%. Daraus ergibt sich eine Veränderung der Kern-Plasma-Relation, und zwar infolge etwas stärkerer Schrumpfung des Plasmas zugunsten der Kern-Plasma-Relation.

Unter Alkoholeinfluß zeigte sich bei den Messungen mit dem Revolverokular in der Histologie eine Schrumpfung des Zytoplasmas von 53,96%. Die Kerne unterlagen einer Schrumpfung von 15,38%. Mit dem Mikrovideomat erhielten wir einen Schrumpfungsfaktor des Zytoplasmas von 41,94%. Der Schrumpfungsfaktor des Zytoplasmas war mit allen angewandten Methoden sowohl in der Anfangsgruppe als auch nach achtwöchiger Alkoholapplikation fast gleich. Der Schrumpfungsfaktor der Kerne war unterschiedlich. Unter Alkoholeinfluß, also bei funktioneller Stimulierung, zeigte sich eine geringere Schrumpfung der Kerne.

Aus unseren Ergebnissen geht hervor, daß das Zytoplasma und der Kern der Belegzellen der unbehandelten Tiere eine fast gleiche Schrumpfungstendenz zeigten. Die Werte des Zytoplasmas lagen etwas höher, da die Kerne bei der Fixierung weniger schrumpfen (WÜSTENFELD, EULIG und MOND).

V. ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSFOLGERUNG

Wir haben versucht, durch quantitativ-morphologische Untersuchungen festzustellen, ob nach Gabe von 15%-igem Äthanol bei Ratten eine Veränderung der Belegzellgröße nachweisbar ist.

Für den experimentellen Teil dieser Arbeit benützten wir 84 männliche Wistar-Ratten, die Altromin^{R}-Festfutter und eine 15%-ige Äthanollösung ad libitum erhielten. Die Kontrolltiere bekamen Wasser ad libitum.

Die Tiere wurden in 2 x 6 Gruppen aufgeteilt und nach 8 Tagen, 2, 4, 8 und 12 Wochen getötet. Die Mägen wurden sofort entnommen, entlang der großen Kurvatur eröffnet, in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, geglättet und auf einer Korkplatte befestigt.

Zur histologischen Einbettung wurden mehrere Längsstreifen von der Vorderwand, Hinterwand und der kleinen Kurvatur in Carnoy'scher Flüssigkeit fixiert. Die Färbung erfolgte mit wässriger Kongorotlösung. Danach wurden die Präparate unter dem Lichtmikroskop mit dem Revolverokular mit Integrationsstrichplatte IV vermessen.

1. Die Untersuchung der Belegzellen mit dem Revolverokular ergab bei den Versuchstieren der Gruppe F, die über 8 Wochen 15%-igen Äthanol erhielten, eine Vergrößerung der Zellfläche um 71,6% im Vergleich mit den Kontrolltieren der Gruppe A. Bemerkenswert ist, daß die Zellflächen bei den Tieren der Gruppe

G - über 12 Wochen mit Alkohol behandelt - eine Größenzunahme von nur 33% gegenüber der Gruppe A zeigten. Schon nach 8 Tagen Alkoholapplikation ist bei den Tieren der Gruppe B eine Vergrößerung der Zellfläche um 44,1% aufgetreten. (Tab. 3, Abb. 7)

Eine Verringerung der Kern-Plasma-Relation um 39,5% war in der Gruppe F (über 8 Wochen mit Alkohol behandelten Ratten) gegenüber der Gruppe A festzustellen (Tab. 5, Abb. 9). Die beiden Kontrollgruppen A und D wiesen in der Zellflächengröße und in der Kern-Plasma-Relation keine wesentlichen Veränderungen auf. Beim Vergleich der Korngrößen der Belegzellen der Gruppe A mit der Gruppe F zeigte sich eine Vergrößerung der Kernfläche um 10,01%. Die Verringerung der Kern-Plasma-Relation ist also auf die sehr starke Massenzunahme des Plasmas bei nur geringer Kernvergrößerung zurückzuführen.

Außerdem sahen wir bei weiterer Alkoholgabe über 12 Wochen eine Kernverkleinerung von 5,01% bei der Gruppe G gegenüber der Gruppe A. (Tab. 7, Abb. 11)

2. Eine zweite quantitative Auswertung wurde mit dem Mikrovideomat vorgenommen. Die auf diesem Wege erhaltenen Messungen ergaben eine Vergrößerung der Belegzellfläche um 78,07% bei den Ratten der Gruppe F gegenüber der Anfangsgruppe. In der Gruppe G, deren Tiere über 12 Wochen Alkohol erhielten, wurde eine starke Verminderung der Zellflächen gemessen. Der Wert lag mit 7,49% unter dem der Gruppe A. (Tab. 9, Abb. 13) Beim Vergleich der Kern-Plasma-Relation erhielten wir in der Gruppe F einen Abfall der Relation um 18,02% gegenüber der Kontroll-

gruppe A. In der Gruppe G fand sich nur noch ein Abfall von 5,68% gegenüber der Gruppe A. (Tab. 11, Abb. 15) Die Kernflächen der Belegzellen wiesen in der Gruppe F eine Flächenvergrößerung von 60,47% im Vergleich zur Gruppe A auf. Eine Verkleinerung der Kernflächen um 29,24% fanden wir in der Gruppe G gegenüber der Anfangsgruppe A. (Tab. 13, Abb. 17)

3. Mit beiden Meßmethoden erhielten wir in den eingebetteten histologischen Präparaten übereinstimmend eine Vergrößerung der Belegzellfläche und des Kernes nach Gabe von 15%-igem Äthanol über 8 Wochen. Bei den Tieren der Gruppe G trat nach 12 Wochen Alkoholapplikation wiederum eine Verkleinerung der Zellfläche und des Kernes auf.
Die nach 8 Wochen auftretende Vergrößerung der Belegzellen ist als Leistungshypertrophie zu deuten. Die Verkleinerung der Belegzellen, die nach weiterer Alkoholgabe gemessen wurde, sehen wir als Ausdruck einer Adaptation der Zelle an den Alkoholeinfluß an. Ob tatsächlich eine physiologische Anpassung unter chronischer Alkoholgabe erfolgt oder ob regressive Veränderungen der Belegzellen eine Verkleinerung bewirken, ist nur durch lichtmikroskopische Untersuchungen nicht zu klären.

4. Im Rahmen dieser Arbeit sollten ferner Meßergebnisse von histologischen Präparaten mit den an zytologischen Präparaten gewonnenen Daten verglichen werden. Zytologische Präparate schienen wegen der geringeren Schrumpfung bei der Fixierung für morphometrische Untersuchungen besser geeignet; es war zu erwarten, daß die gewonnenen Meßdaten den tatsächlichen Verhältnissen intra vitam wesentlich näher kommen, als die am eingebetteten Material erarbeiteten Ergebnisse.

Zur zytologischen Untersuchung wurden die noch feuchten Objektträgerausstriche in Äther und absolutem Alkohol fixiert. Um eine kontrastreiche Färbung für den Mikrovideomat zu erhalten, wurde die Papanicolaou-Färbung von uns modifiziert.

5. Die quantitativ-morphologischen Befunde unter Benutzung des Revolverokulars zeigten in der Gruppe F eine Zunahme der Fläche der Zellen um 51,4% im Vergleich zur Kontrollgruppe A. Bei den über 12 Wochen mit Alkohol behandelten Tieren der Gruppe G wiesen die Belegzellen im Vergleich zur Gruppe A nur eine Zunahme der Fläche von 15,3% auf, das bedeutete zur Gruppe F eine Verkleinerung der Zellfläche um 36,1%. Nach 8 Tagen Alkoholapplikation (Gruppe B) lag eine Vergrößerung der Zellfläche um 8,6% vor. Die Gruppen A und D als Kontrollgruppen zeigten nur geringe Abweichungen. (Tab. 15, Abb. 19) Bei der Berechnung der Kern-Plasma-Relation war in der Gruppe F eine Abnahme der Relation um 52% gegenüber der Gruppe A aufgetreten. In der Gruppe G ergab sich eine Abnahme der Kern-Plasma-Relation um 40,6%. (Tab. 17, Abb. 21) In den Gruppen F und G sahen wir bei den Messungen eine Kernverkleinerung der Belegzellen um 30,67% gegenüber der Anfangsgruppe. (Tab. 19, Abb. 23)

6. Die Messungen mit dem Mikrovideomat zeigten eine Vergrößerung der Belegzellflächen um 41,03% in der Gruppe F gegenüber der Gruppe A. In der Gruppe G konnten wir eine Vergrößerung der Zellfläche nur noch um 2,9% im Vergleich zur Gruppe A feststellen. (Tab. 21, Abb. 25) Ferner zeigte sich eine Abnahme der Kern-Plasma-Relation in der Gruppe F um 36,51% gegenüber der Gruppe A; in der Gruppe G wurde nur

noch eine Abnahme der Kern-Plasma-Relation um 11,41% errechnet. (Tab. 23, Abb. 27) Die Kernflächen der Belegzellen zeigten in der Gruppe F eine Abnahme der Fläche um 5,46% und in der Gruppe G um 6,11% gegenüber Gruppe A. (Tab. 25, Abb. 29)

7. Auch in den zytologischen Präparaten erhielten wir also mit beiden Meßmethoden unter Alkoholapplikation eine Vergrößerung der Belegzellfläche jedoch eine Verkleinerung des Kernes. Nach 12 Wochen sahen wir eine Belegzellflächenvergrößerung und eine Kernverkleinerung gegenüber der Kontrollgruppe A.

8. Beim Vergleich der Messungen am eingebetteten Schnittmaterial mit den Ergebnissen des zytologischen Materials erhielten wir mit dem Revolverokular in der Gruppe A - Zytologie - eine Zunahme der Gesamtzellfläche um 145,11%. Auch mit dem Mikrovideomat wurde in der Gruppe A eine Zunahme der Gesamtzellfläche von 116,99% gemessen. Die Messungen mit dem Revolverokular in der Gruppe F - 8 Wochen Alkoholapplikation - ergab in der Zytologie eine Zunahme der Gesamtzellfläche der Belegzellen um 117,16%. Mit dem Mikrovideomat wurde eine Zunahme von 72,16% gemessen.
Der Vergleich der Kernflächenmessungen ergab unterschiedliche Ergebnisse. Mit dem Revolverokular ließ sich in der Gruppe A an zytologischen Präparaten eine Zunahme der Kernfläche um 87,5% messen. Mit dem Mikrovideomat erhielten wir eine Zunahme von 69,1%. In der Gruppe F wurde eine Zunahme der Kernfläche von 18,1% mit dem Revolverokular gemessen. Die Messungen mit dem Mikrovideomat ergaben keine Kernflächenänderung.

9. Aus unseren Ergebnissen ist zu ersehen, daß mit dem zytologischen Ausstrichverfahren sowohl bei Messung mit dem Revolverokular als auch mit dem Mikrovideomat größere Belegzellflächen gemessen werden konnten.

10. Der Schrumpfungsfaktor der histologischen Präparate gegenüber den zytologischen Präparaten war in der Gruppe A (ohne Alkohol) bei der Messung des Zytoplasmas 59,18% und der Kernfläche 46,67%. Mit dem Mikrovideomat erhielten wir eine Schrumpfung des Zytoplasmas von 53,92% und der Kernfläche von 40,87%.

    Nach achtwöchiger Alkoholapplikation (Gruppe F) trat eine Schrumpfung des Zytoplasmas von 53,96% und der Kernfläche von 15,35% gemessen mit dem Revolverokular auf. Mit dem Mikrovideomat wurde eine Schrumpfung des Zytoplasmas von 41,92% und keine Kernflächenveränderung gemessen.

    Der Schrumpfungsfaktor des Zytoplasmas war in den Gruppen A und F mit beiden Meßmethoden fast gleich. Unter Alkoholeinfluß trat eine geringere Schrumpfung der Kerne verglichen mit der Anfangsgruppe auf.

11. Mit den vorliegenden Untersuchungen sollte auch ein methodischer Vergleich der Meßergebnisse des Revolverokulars mit dem Mikrovideomat vorgenommen werden. Zum Vergleich wurden nur die zytologischen Präparate herangezogen. Die Messung mit dem Mikrovideomat ergab sowohl in der Gruppe A als auch in der Gruppe F nach achtwöchiger Alkoholgabe durchweg größere Zellflächen als die Messung mit dem Integrationsokular, während die Kernflächen deutlich kleiner angegeben wurden.

Die Anwendung des Mikrovideomaten im zyto- und histomorphologischen Bereich ist somit nach unseren Erfahrungen bislang nur beschränkt möglich. Sein Einsatz erfordert zudem erhebliche methodische Vorarbeiten zur kontrastreichen Darstellung der zu messenden histologischen Strukturen. Zweifellos hängt der Wert der erzielten Meßergebnisse auch von den Eigenschaften des untersuchten Gewebes ab.

Die Messung mit dem Revolverokular erwies sich für die vorliegende Fragestellung als günstiger.

VI. SCHRIFTTUM

AUGUR, N. A.: Gastric mucosal blood flow following damage by ethanol, acetic acid, or aspirin.
Gastroent., 58, 311-320, 1970

BERNARD, C.: Zitat nach Klikowicz, St.: Über den Einfluß einiger Arzneimittel auf die künstliche Magenverdauung.
In: Virchow's Archiv Berlin, 102. Bd., 360-396, 1885

BRALOW, S. P., KOMAROV, S. A.: Parietal cell mass and distribution in stomachs of Wistar rats.
Am. J. Physiol., 203, 550-552, 1962

CAMBEL, P., SGOURIS, J.: Pathologic changes in the gastric mucosa of the rat after histamine administration.
Am. J. Path., 28, 1079-1093, 1952

CARD, W. I., MARKS, I. N.: The relationship between the acid output of the stomach following "maximal" histamine stimulation and the parietal cell mass.
Clin. Sci., 19, 147-163, 1960

CHEY, W. Y.: Alcohol and gastric mucosa.
Digestion, 7, 239-251, 1972

COX, A. J., BARNES, V. R.: Experimental hyperplasia of the stomach mucosa.
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.), 60, 118-120, 1945

CONOVER, W. J.: Two k-sample Slippage-Tests.
In: Journal of the american statistical association. Editor John, W. Pratt, Washington, D. C. Volume 63, 614-626, 1968

DAVENPORT, H. W.: Ethanol damage to canine oxyntic glandular mucosa.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 126, 657-662, 1967

DAVENPORT, H. W.: The inhibition of carbonic anhydrase and of gastric acid secretion by thiocyanate.
Am. J. Physiol., 129, 505, 1940

DAVENPORT, H. W.: Gastric mucosal hemorrhage in dogs. Effects of acid, aspirin and alcohol.
Gastroent., 56, 439-449, 1969

DEGENHARD, W. E.: Quantitative Mikroskopie.
Separatdruck aus Chem. Rd., 26, 5-7, 1973

DINOSO, V. P., CHEY, W. Y., SIPLET, H., LORBER, S. H.: Effects of ethanol on the gastric mucosa of the Heidenhain pouch of dogs.
Am. J. Dig. Dis., 15, 809-817, 1970

DRAGSTEDT, C. A., GRAY, J. S., LAWTON, A. H., RAMIREZ DE ABELLANO, M.: Does alcohol stimulate gastric secretion by liberating histamine?
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 43, 26-28, 1940

DUMKE, K., GROSSE, G., NIEDOBITEK, F., SCHMID, E.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur kombinierten ulcerogenen Wirkung von Alkohol und Streß bei der Ratte.
Z. Gastroenterol. 2, 334-342, 1975

ELWIN, C.-E.: Some factors influencing the stimulatory effect of ethanol on gastric acid secretion during antrum application.
Acta physiol. scand., 75, 12-27, 1969

ELWIN, C. E.: Stimulation of gastric acid secretion by irrigation of the antrum with some alliphatic alcohols.
Acta physiol. scand., 75, 1-11, 1969

EULIG, H.-G., MOND, W.: Der Einfluß der Fixierung auf das Kernvolumen.
Z. wiss. Mikr., 61, 201-209, 1952/53

FOLEY, W. A., GLICK, D.: Histamine, mast and parietal cells in stomachs of rats and effects of cortisone treatment.
Gastroent., 43, 425-429, 1962

GAHM, J.: Handbuch für die visuelle Messung mit dem quantitativen Fernseh-mikroskop Micro-Videomat.
Carl Zeiss, Oberkochen

GAHM, J.: Geräte und Aufgabenstellungen der "Stereometrischen Analyse".
Sonderdruck aus Zeiss-Mitteilungen, 5, 1971

HEIDENHAIN, R.: Untersuchung über den Bau der Labdrüsen.
Arch. mikrosk. Anat., 6, 368-406, 1870

HENNING, N., WITTE, S.: Atlas der gastroenterologischen Zytodiagnostik.
Thieme-Verlag, Stuttgart 1968

HOLLANDER, F.: The chemistry and mechanics of hydrochloric acid formation in the stomach.
Gastroent., 1, 401, 1943

IRVINE, W. T.,
WATKIN, D. B.,
WILLIAMS, E. J.:

The mechanism by which alcohol stimulates acid secretion.

Gastroent., 39, 41-47, 1960

IRVINE, W. T.,
RITCHIE, H. D.,
ADAM, H. M.:

Histamine concentrations in the gastric venous effluent before and during acid secretion.

Gastroent., 41, 258-263, 1961

MARKS, I. N.,
KOMAROV, S. A.,
SHAY, H.:

Acid secretory responses to histamine and the parietal cell mass in the dog.

Am. J. Physiol., 195, 528-534, 1958

MARKS, I. N.,
KOMAROV, S. A.,
SHAY, H.:

Maximal acid secretory response to histamine and its relation to parietal cell mass in the dog.

Am. J. Physiol., 199, 579-588, 1960

MYREN, J.,
SEMB, L. S.:

The number of parietal cells and the rates of gastric secretion before and after subcutaneous injection of large doses of histamine.

Gastroenterologia, 98, 207-216, 1962

POPOFF, P. M.:

Über Magenkatarrh.

Z. klin. Med., 32, 389, 1897

REHM, W. S.:

A theory of the formation of HCl by the stomach.

Gastroent., 14, 401, 1950

REID, N. C. R. W.,
HACKETT, R. M.,
WELBOURN, R. B.:

The influence of cortisone on the parietal cell population of the stomach in the dog.

Gut, 2, 119-122, 1961

ROMEIS, B.:

Mikroskopische Technik.

Oldenburg Verlag, Mchn.-Wien, 1968

SALAMON, A.: Untersuchung der sekretorischen Innervation der Magenschleimhaut mittels Kernvariationsstatistik.
Acta morph. (Budapest), 5, 1-9, 1955

SCHMIDT, H. A., HAAKE, U., RIECKEN, E. O.: Untersuchungen zur Beziehung zwischen Säuresekretion und Belegzellzahl in Biopsiematerial.
Klin. Wschr., 50, 744-750, 1972

SUM, P. T., PRESHAW, R. M.: Growth of the parietal cells population in the gastric mucosa of beagle dogs.
Gastroent., 54, 1050-1056, 1968

TEORELL, T.: Electrolyte diffusion in relation to the acidity regulation of the gastric juice.
Gastroent., 9, 425, 1947

TONGEN, L. A.: The quantitative relationship between parietal cells and gastric acidity.
Surgery, 28, 1009-1015, 1950

VILLEGAS , L.: Cellular location of the electrical potential difference in frog gastric mucosa.
Biochim. biophys. Acta (Amst.), 64, 359, 1962

WOODWARD, E. R., STEVENS, G. A., ROBERTSON, C.: The role of antrum in surgery for duodenal ulcer.
Arch. Surg., 72, 1003-1008, 1956

WOODWARD, E. R., ROBERTSON, Ch., RUTTENBERG, H. D., SCHAPIRO, H.: Alcohol as a gastric secretory stimulant.
Gastroent., 32, 727-737, 1957

WÜSTENFELD, E.: Experimentelle Beiträge zur Frage der Volumenänderungen und Eindringdauer in der histologischen Technik.
Z. wiss. Mikr., 63, 193-209, 1956/1958

YOSHIMORI, M., CHEY, W. Y., ESCOFFERY, R., LILLIBRIDGE, C.: Effects of ethanol on gastric secretion of acid and parietal cells in dog.
Gastroent., 62, 732, 1972

ZEISS, AG: Integrations- und Korngrößenplatten für Revolverokular und Projektionsscheiben.

Herrn Professor Dr. med. F. Niedobitek bin ich für die freundliche Überlassung des Themas und für wertvolle Ratschläge und Anregungen zu besonderem Dank verpflichtet.

Fräulein Ingeborg Meier und Frau Linda Maznain danke ich für die Hilfe bei der Durchführung der Versuche und für die Fertigstellung der histologischen und zytologischen Präparate.

Mein Dank gilt auch Herrn Günter Heinze für die fotographische Dokumentation.

Lebenslauf

Am 21. Juli 1942 wurde ich, Hussain Al-Abadi, als Sohn des Kaufmanns Ali Al-Abadi und seiner Ehefrau Haschmia in Mahmodia/Bagdad im Irak geboren.

Ich besuchte eine Grundschule und anschließend für 3 Jahre eine Mittelschule. Danach war ich 2 Jahre lang Schüler der Oberschule Al-Adadiah Elmerkasia in Bagdad und habe dort am 22.10.1960 die Reifeprüfung abgelegt.

Im gleichen Jahr kam ich in die Bundesrepublik Deutschland, um ein Medizinstudium zu beginnen. Ich besuchte 6 Monate lang das Goethe-Institut in Radolfzell/Bodensee. Von 1961 bis 1963 besuchte ich das Studienkolleg für ausländische Studierende der Freien Universität in Berlin. Im Sommersemester 1963 begann ich an der Freien Universität Berlin das Medizinstudium. Im Sommersemester 1968 legte ich die ärztliche Vorprüfung ab. Am 16. Februar 1972 bestand ich die ärztliche Prüfung an der Freien Universität Berlin.

Während der Medizinalassistentenzeit war ich am Klinikum Westend, am Pathologischen Institut und in der Medizinischen Poliklinik, sowie im Kreiskrankenhaus Wörth an der Donau tätig.

Seit Juli 1973 bin ich als wissenschaftlicher Assistent am Pathologischen Institut des Klinikum Charlottenburg der Freien Universität Berlin tätig.

Ich bin verheiratet und habe zwei Kinder.